

## تاثیر عناصر سنگین بر برخی اسید آمینه‌ها، میزان قند محلول و پروتئین کل در بذور دو رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

سیده یلدا رئیسی ساداتی<sup>۱</sup>، سدابه جهانبخش گده کهریز<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

نویسنده مسول: \*jahanbakhsh@uma.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۰

### چکیده

فلزات سنگین با تجمع در خاک و جذب بوسیله گیاه به زنجیره غذایی وارد می‌شوند و مسمومیت‌هایی را در گیاهان و افراد تغذیه کننده به وجود می‌آورند. کادمیوم و جیوه از جمله دو آلاینده خطرناک و سرطان‌زا به شمار رفته که در اکوسیستم‌های طبیعی میزان آن توسط فعالیت‌های انسانی افزایش یافته که منجر به کاهش تولید پروتئین، ایجاد اختلال در انواع واکنش‌ها و اعمال سلولی و باعث توقف رشد و نمو می‌شوند و در کل خطرهای بزرگی برای کشاورزی به شمار می‌روند. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کلرید جیوه (با غلظت ۱۰ و ۲۰ میکرومولار)، کلرید کادمیوم (۰/۵ میلی‌مولار) و اثرات متقابل کادمیوم با جیوه در دو سطح (۱۰ میکرومولار جیوه با ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم، ۲۰ میکرومولار جیوه با ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم) همراه با گیاهچه‌های شاهد بود. نتایج نشان داد که در رقم گنبد اثر متقابل هر دو فلز سنگین، میزان قند محلول، پروتئین کل، پرولین، لیزین و متیونین افزایش یافت اما در رقم تاجن کاسته شد. با توجه به این که سیستم دفاعی گیاه موجب کاهش آسیب‌های ناشی از تنش‌های مختلف می‌شود بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش میزان متابولیت‌های درگیر در سیستم دفاعی از جمله میزان قند محلول، پروتئین کل و اسید آمینه‌های پرولین، لیزین و متیونین در رقم گنبد می‌تواند به افزایش مقاومت به تنش این رقم کمک کند. در مجموع رقم گنبد رقم مقاوم محسوب شده و همچنین احتمالاً رقم تاجن که رقم حساسی با توجه به نتایج بدست آمده می‌باشد از سایر مکانیزم‌ها برای تحمل به تنش استفاده کرده است.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آمینه، صفات فیزیولوژیک، فلزات سنگین، متابولیت‌ها، گندم

### مقدمه

تجاری مهم بوده و غذای اصلی بیش از یک سوم مردم جهان را تأمین می‌کند (ارزانی، ۱۳۸۷). این گیاه بیشترین سطح زیر کشت را دارا بوده، که به طور تقریبی در ۲۰۰ میلیون هکتار زمین کشت و میانگین کل تولید سالیانه آن حدود ۶۰۰ تن است. تخمین زده شده است که میزان

گندم یکی از پرمصرف ترین منبع پروتئینی در غذای انسان بوده و میزان پروتئین آن نسبت به دیگر غلات افزون‌تر است و در بین غلات اهمیت ویژه‌ای دارد. گندم نان (*Triticum aestivum* L.) از لحاظ

می‌گردد (زو و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به استفاده بیش از اندازه از کودهای شیمیایی به خصوص کودهای فسفاته و افزایش روزافزون استفاده از لجن فاضلاب جهت حاصلخیز نمودن و به‌دنبال آن آلودگی خاک‌های این مناطق، مطالعات گسترده در مورد اثرات این عناصر بر صفات فیزیولوژیک و تنش ناشی از افزایش فلزات سنگین در خصوص گیاهانی مهم و استراتژیک مانند گندم ضروری و حائز اهمیت است. در این راستا هدف از این بررسی، مطالعه میزان پروتئین، فندهای محلول و سنتز و تخریب چند اسید آمینه ضروری در جهت شناخت اثرات تنش فلزات سنگین بر روی فیزیولوژی گیاهان زراعی برای آگاهی از مکانیسم‌های مقاومت و بقای گیاهان به منظور افزایش تحمل در برابر تنش ضرورت دارد.

#### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر جیوه و کادمیوم بر بذر گندم بر روی پایه مادری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام شد. محلول‌پاشی با کلرید کادمیوم (۰/۵ میلی‌مولار)، کلرید جیوه (با غلظت ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) و مخلوط کادمیوم با جیوه در دو سطح (۱۰ میکرومولار جیوه با ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم، ۲۰ میکرومولار جیوه با ۰/۵ میلی‌مولار کادمیوم) همراه با گیاهچه‌های شاهد در مرحله سه-برگی انجام گرفت و بعد از مرحله سنبله‌دهی گیاه گندم، نمونه‌برداری از بذور شاهد و تیمار انجام شد. همچنین در پایان آزمایش برای وزن خشک ساقه ۱۰ عدد از گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شده و سپس برای تعیین وزن خشک گیاهچه، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و با استفاده از ترازوی دقیق وزن خشک گیاهچه‌ها به دست آمد.

تقاضای جهانی تا سال ۲۰۲۰ به ۱۰۰۰-۸۴۰ میلیون تن برسد (راجارم و بران، ۲۰۰۶). فلزات سنگین از آلاینده‌های مهم زیست محیطی به‌شمار می‌روند که سلامت انسان، حیوانات و محیط زیست را به‌طور جدی تهدید می‌کنند (ایوبه و همکاران، ۲۰۱۳). فلزات سنگین بر مولکول‌های آلی مانند پروتئین‌ها و لیپیدها تأثیر نامطلوب داشته و از جمله تغییرات آن‌ها می‌توان به غیر فعال کردن پروتئین‌ها، اکسید کردن چربی‌ها و اختلال در متابولیسم قندها اشاره کرد (سوابقی و همکاران، ۲۰۰۰). کادمیوم و جیوه در گروه فلزات سنگین بسیار سمی طبقه‌بندی شده و باعث توقف رشد، کاهش تولید پروتئین و منجر به تنش اکسیداتیو، تشکیل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن نیز می‌شوند (زو و همکاران، ۲۰۰۷). زمانی که رشد در اثر فلزات سمی متوقف شد، مکانیسم‌های مختلفی از جمله: استفاده از سیستم انتقال برای وارد کردن اسید آمینه‌ها و منابع کربنی دیگر، تقویت سیستم انتقالی-فلزی برای تنظیم فلز درون سلولی تسهیل سنتز اسیدهای آمینه پیوند فلزی و دیگر منابع کربن برای سازش و تعادل سلولی در نظر گرفته می‌شود (ایسارانکورا و همکاران، ۲۰۰۹). کادمیوم با تولید فرم‌های مختلفی از انواع اکسیژن فعال واکنش سمی ایجاد کرده و موجب آسیب به پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA شده و در نهایت منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (زانگ و همکاران، ۲۰۱۰). یون‌های جیوه سبب تنش اکسیداتیو شده که به دنبال آن گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر را در گیاهان تولید می‌کنند. این فرآیند سبب آسیب در ساختار لیپیدهای غشایی شده و متابولیسم سلولی را دچار اختلال می‌کند (کارگنلوتی و همکاران، ۲۰۰۶). سمیت جیوه در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد در گیاه باعث کاهش در تولید پروتئین و جوانه‌زنی

اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. استخراج پروتئین جهت بررسی فعالیت آنزیمی با کمک روش سودهاکر و همکاران انجام گرفت (سودهانکار و همکاران، ۲۰۰۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک دو نرم افزار SAS، SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

### نتایج و بحث

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر متقابل رقم x فلز سنگین در رابطه با مقدار پروتئین، میزان قندهای محلول، محتوای پرولین، لیزین و متیونین در ارقام مورد بررسی گندم (گنبد و تجن) در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. نوع ارقام مورد مطالعه به جز در صفت میزان کربوهیدرات اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند اما در بقیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. اثر فلز سنگین (کادمیوم و جیوه) بر روی تمامی صفات بررسی شده معنی‌دار گردید (احتمال یک درصد).

### پروتئین کل:

نتایج مقایسات میانگین برای میزان پروتئین کل در رقم گنبد افزایش معنی‌داری را در سطوح کلرید جیوه، کلرید کادمیوم و اثرات متقابل کادمیوم با جیوه نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱، a). در رقم تجن به جز اثر متقابل کلرید جیوه ۲۰ میکرومولار با کلرید کادمیوم ۰/۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین نسبت به

اندازه‌گیری قند محلول برگ: برای اندازه‌گیری میزان قند محلول، ابتدا عصاره الکلی از برگ‌ها تهیه شد. بدین صورت که، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ‌های نگهداری شده در یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد برداشته و در هاون چینی کاملاً هموژن گردید. سپس پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و به لوله آزمایش درب‌دار منتقل شده و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. مایع رویی جدا و به لوله‌ی دیگری منتقل شده و سپس دو بار و در هر بار پنج میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی‌مانده اضافه و کاملاً شستشو گردید و سپس بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شده و در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمد. عصاره‌ی حاصل، به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش قند محلول استفاده شد (اوموکولو و همکاران، ۱۹۹۶). میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

### تعیین مقدار کمی پروتئین کل محلول برگ

گندم: جهت غلظت پروتئین تعیین از روش برادفورد استفاده گردید (برادفورد، ۱۹۷۶). به منظور رسم منحنی استاندارد پروتئین، از پروتئین استاندارد آلبومین گاوی (Bovine Serum Albumin) BSA استفاده شد و مقدار کمی پروتئین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

### سنجش مقدار پرولین، لیزین و متیونین برگ:

استخراج پرولین از برگ‌ها با استفاده از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت لیزین و متیونین به روش لوساک و همکاران (لوساک و همکاران، ۲۰۱۰) تعیین و در دستگاه

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر فلزات سنگین بر قند محلول، پروتئین کل، پرولین، لیزین و متیونین در دو رقم گندم

میانگین مربعات (MS)						
منبع تغییر	درجه آزادی	قند محلول	پروتئین کل	پرولین	لیزین	متیونین
رقم	۱	۰/۰۳*	۴۱/۵۳ <sup>ns</sup>	۳/۷۱**	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۱**
فلز سنگین	۵	۰/۳۰**	۸۳۵/۴**	۰/۳۴**	۰/۱۷۱**	۰/۰۰۱۹**
رقم × فلز سنگین	۵	۰/۲۴**	۱۵۱۵/۸**	۰/۴۴**	۰/۲۶۵**	۰/۰۰۱۸**
خطا	۲۴	۰/۰۰۸	۱۷۷/۵۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۲
ضریب تغییر (CV)	-	۶/۴	۱۱/۳	۷/۸	۱/۸	۶/۲

\* اختلاف معنی دار در سطح ۵٪، \*\* اختلاف معنی دار در سطح ۱٪، <sup>ns</sup> بدون اختلاف معنی دار

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 به علت از بین رفتن ساختارهای پروتئینی و حضور رادیکال‌های آزاد نسبت داده می‌شود که با نتایج ما در رابطه با رقم گنبد شاهد مطابقت داشت.

#### میزان قند محلول:

در نتایج مقایسه میانگین مربوط به میزان قندهای محلول مشاهده شد که در بذور رقم گنبد و تجن به جز تیمار جیوه با بالا رفتن غلظت کادمیم و اثر متقابل کادمیم و جیوه، بر میزان قندهای محلول نسبت به شاهد افزوده شد (شکل ۱، b). در کل بیشترین مقدار قند محلول در غلظت ۲۰ میکرومولار جیوه همراه با ۰/۵ میلی‌مولار و کمترین میزان آن مربوط به تیمار ۱۰ میکرومولار جیوه همراه با ۰/۵ میلی‌مولار در رقم تجن بود. افزایش کربوهیدرات به‌عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود. به‌عنوان مثال قند هگزوز در خاموش کردن ژن‌های فتوسنتز نقش دارد (کوکال و همکاران، ۲۰۰۸). با افزایش قند محلول، گیاه می‌تواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد و از

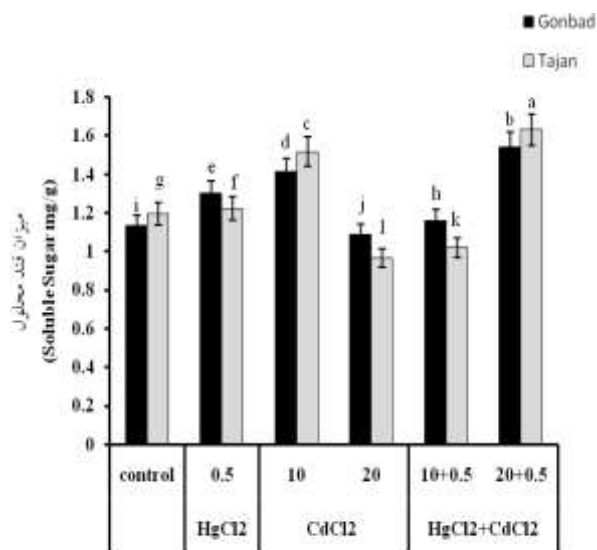
حالت کنترل مشاهده شد اما با افزایش غلظت- های کلرید جیوه و کلرید کادمیم کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین کل نسبت به شاهد ملاحظه گردید. بیشترین میزان پروتئین را رقم تجن تحت تیمار اثر متقابل اثر متقابل کلرید جیوه ۲۰ میکرومولار با کلرید کادمیم ۰/۵ میلی‌مولار را دارا بود و کمترین میزان پروتئین بذور را رقم گنبد شاهد داشت. گیاه در جهت مقابله با تنش فلزات سنگین شروع به سنتز پروتئین‌های دفاعی می‌کند، در این راستا متابولیت‌ها و آنزیم‌های موجود در ساختار پروتئین‌ها را درگیر می‌سازد. در بذور رقم تجن افزایش بیان این پروتئین‌ها در اثر تیمار اثر متقابل کلرید جیوه ۲۰ میکرومولار با کلرید کادمیم ۰/۵ میلی‌مولار گندم احتمالاً به دلیل افزایش سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدهای درگیر در سیستم دفاعی سلول در برابر یون‌ها (متالوتیونین‌ها و فیتوکلاتین‌ها) و یا سنتز بعضی آنزیم‌ها از جمله آنزیم- های آنتی‌اکسیدان، می‌باشد (کوبت و گولداسبروک، ۲۰۰۲). این افزایش می‌تواند بیانگر افزایش آنزیم‌های درگیر در مکانیسم دفاعی گیاه و پلی‌پپتیدهای آنتی- اکسیدان باشد. که با نتایج به‌دست آمده ما در رقم تجن تحت تیمار کلرید جیوه با کلرید کادمیم مطابقت داشت. کادمیم شباهت زیادی با لیگاندهای نیتروژن و پروتئین- های گوگردی دارد و به‌همین دلیل با تشکیل پیوند و

می‌آید. به‌علاوه رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیک تغییر می‌کند (ورما و دویی، ۲۰۰۱).

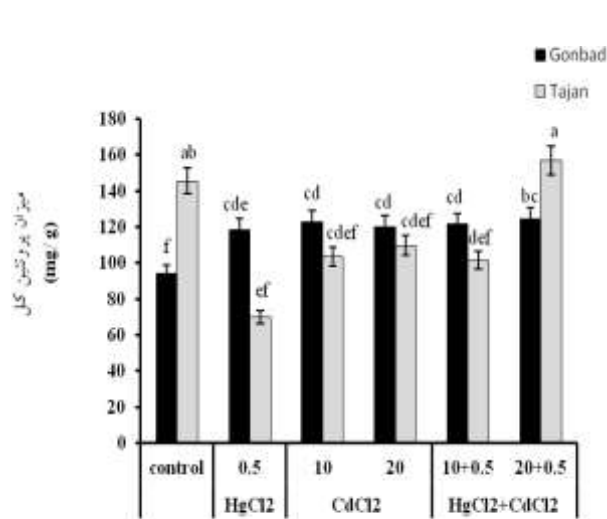
#### میزان پرولین:

نتایج مقایسه میانگین برای محتوای پرولین نیز نشان داد که در رقم گنبد تحت تیمار کلرید جیوه، کلرید کادمیوم و اثر متقابل آن‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد ملاحظه گردید و در رقم تجن اختلاف معنی‌داری

آن‌جا که فلزات سنگین باعث از بین رفتن کلروفیل برگ-ها شده در نتیجه باعث کاهش میزان کربوهیدرات می-شود و در داخل سلول موجب فعال شدن ژن‌های مقاومت می‌گردد (بولتون، ۲۰۰۹). به‌علت مصرف شدن قند در جهت سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پپتیدهایی از جمله فیتوکلاتین‌ها و گلوکاتایون غلظت قند کاهش می‌یابد. بسیاری از 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



غلظت فلزات سنگین (کلرید کادمیوم (mM) و کلرید جیوه (µM))



غلظت فلزات سنگین (کلرید کادمیوم (mM) و کلرید جیوه (µM))

شکل ۱- (a) میانگین تغییرات میزان پروتئین (b) نمودار میانگین تغییرات میزان قند محلول در بذور دو رقم تجن و گنبد گندم تحت تیمار کلرید جیوه، کلرید کادمیوم و اثر متقابل آن‌ها (حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد)

شد. پرولین می‌تواند به‌عنوان ترکیب ذخیره‌ای نیتروژن آلی، طی بازسازی مورد استفاده قرار گیرد (سایرام و تیاگی، ۲۰۰۴). تجزیه سریع پرولین به محض رهایی از تنش، می‌تواند احیاگرهای کافی را فراهم کند که از فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری و تولید ATP

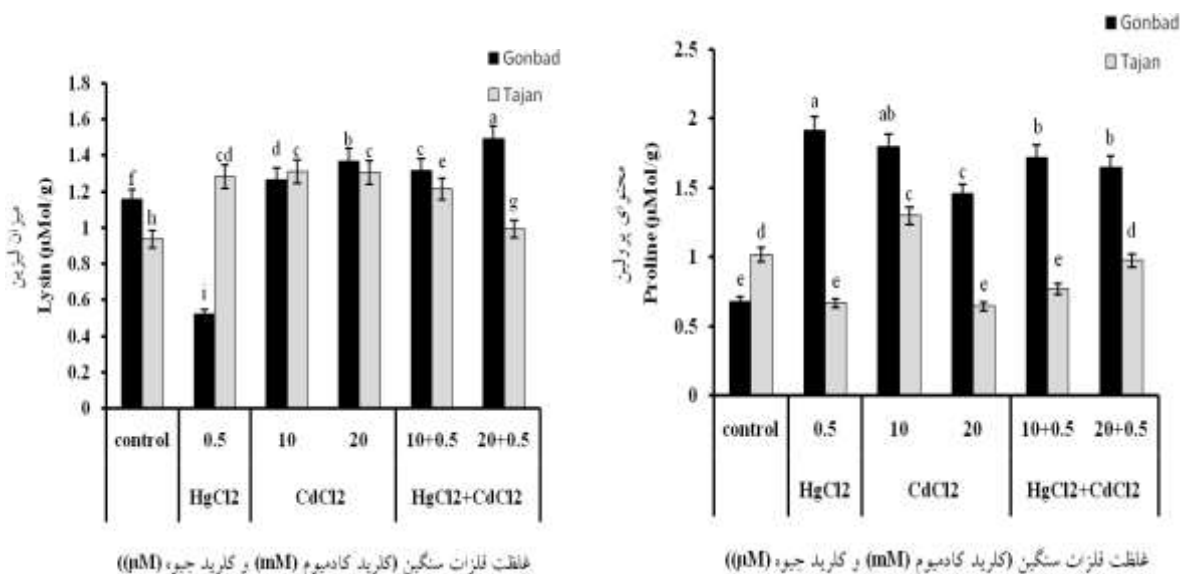
در میزان پرولین نسبت به حالت کنترل وجود داشت (شکل ۲، a). در رقم گنبد و تجن با افزایش غلظت کلرید جیوه و اثر متقابل کادمیوم-جیوه میزان پرولین کاهش یافت اما با افزایش غلظت کلرید کادمیوم به جز در رقم گنبد کاهش معنی‌داری در میزان پرولین مشاهده

برای بازسازی خسارت‌های القا شده از تنش، پشتیبانی کند (اشرف و فولاد، ۲۰۰۷). علاوه بر این، تبدیل برخی از اسیدهای آمینه نظیر اورنیتین، آرژینین و گلوتامین به پرولین، در افزایش آن نقش دارند (ابدولا و ال خوشیبیان، ۲۰۰۷). به‌طور کلی تنش فلزات سنگین تغییرات بیوشیمیایی مهمی را در گندم با توجه به محتوای اسید آمینه پرولین ایجاد می‌کنند. از آنجایی که پرولین به‌عنوان یک محافظ مولکولی، قادر به محافظت از پروتئین‌ها و افزایش فعالیت‌های مختلف آنزیمی است همچنین در پایداری ساختارهای زیر سلولی (غشاها و پروتئین‌ها)، به‌عنوان محلول سازگاری پروتئینی، کاهش دهنده pH سیتوپلاسمی و تعادل نسبت  $NADP^+/NADPH$  در متابولیسم، خشی‌سازی رادیکال‌های آزاد، تنظیم پتانسیل اکسید و احیایی در شرایط تنش نقش دارد (سابادوس و ساوور، ۲۰۰۹). بنابراین به نظر می‌رسد گیاه برای افزایش تحمل به تنش، این اسید آمینه را افزایش داده و موجب مقاومت به تنش می‌شود.

#### میزان اسید آمینه لیزین:

طبق نتیجه مقایسه میانگین، رقم گنبد با افزایش غلظت‌های کلرید جیوه و اثر متقابل کلرید کادمیوم-کلرید جیوه افزایش معنی‌داری در میزان لایزین نسبت به شاهد مشاهده گردید. در حالی‌که در تیمار با کلرید کادمیوم کاهش معنی‌داری در میزان لایزین نسبت به حالت کنترل وجود داشت (شکل ۲، b). در بذور رقم تجن تحت تیمار

کلرید جیوه و کلرید کادمیوم اختلاف معنی‌داری در میزان اسید آمینه لایزین بین شاهد و افزایش غلظت‌ها ملاحظه گردید. در رقم تجن با افزایش غلظت کلرید جیوه و اثر متقابل کلرید کادمیوم-کلرید جیوه از میزان لایزین کاسته شد اما با افزایش غلظت کلرید کادمیوم میزان این اسید آمینه افزایش یافت. در رقم گنبد به جز کلرید کادمیوم در بقیه تیمارها با بالا رفتن غلظت تیمارها میزان اسید آمینه لایزین افزایش یافت. بیشترین میزان این اسید آمینه در رقم گنبد اثر متقابل کادمیوم-جیوه ۲۰ میکرومولار و کمترین میزان لایزین مربوط به همین رقم تحت تیمار کلرید کادمیوم بود. لایزین یکی از اسید آمینه‌های ضروری است که در سطح گیاهان و برخی از بافت‌های گیاهی، تحت برخی شرایط تنش تا حد زیادی میزان سنتز آن تنظیم می‌شود و به‌طور کارآمد در پاسخ به تنش و برخی از برنامه‌های تکاملی ابتدا به گلوتامات و سپس به سایر متابولیت‌های مرتبط با تنش تبدیل می‌شود (گالیلی و همکاران، ۲۰۰۱). واکنش گیاهان به تنش‌های زیستی باعث رمز شدن آنزیم‌های بیوسنتز کننده‌ی لیزین می‌شود (سونگ و همکاران، ۲۰۰۴). کاهش این اسید آمینه در بذور رقم گنبد تحت تیمار کلرید کادمیوم ۰/۵ میلی‌مولار احتمالاً می‌تواند به‌علت وارد شدن آن در فرآیندهای تولید متابولیت‌های مقاومت به تنش از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین باشد. بنابراین تغییرات لایزین در



حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

شکل ۲- (a) مقایسه میانگین محتوای اسید آمینه‌های پرولین و لیزین (b) در دو رقم گنبد و تاجن بذور گندم تحت تیمار با کلرید کادمیوم، کلرید جیوه و اثر متقابل هر دو فلز سنگین

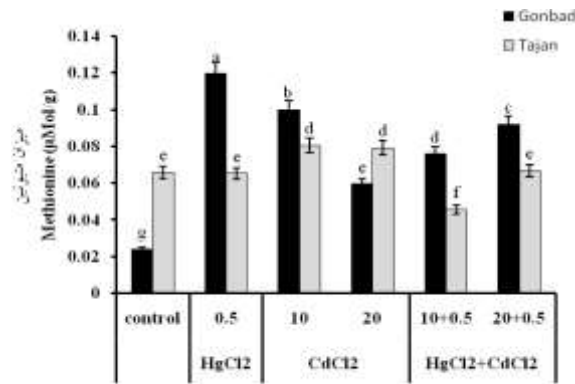
غشاء را تنظیم می‌کند. متیونین پیش ماده‌ای برای ترکیبات کلاته کننده یون فلزی نیکوتین آمید، فیتو سیدروفورها و کوفاکتور بیوتین است (راج، ۲۰۰۶). این اسید آمینه منبع گروه پروفیلامین بوده و از این طریق در سنتز فنیل آمین-ها، اسپرمیدین و اسپرمین که از جنبه‌های رشد گیاه، از جمله تکثیر، تمایز سلول و بیان ژن نقش حیاتی بازی می‌کند دخالت دارد (پانگ و همکاران، ۲۰۰۷). احتمالاً کاهش این اسید آمینه در رقم تاجن تحت تیمار اثر متقابل کادمیوم-جیوه و در رقم گنبد تحت تاثیر کلرید جیوه به-علت وارد شدن آن‌ها در فرآیندهای تولید متابولیت‌های مقاومت به تنش از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین بوده باشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) تاثیر متقابل رقم × فلز سنگین به جز صفت تعداد سنبله که در

تیمارها به دلیل تولید متابولیت‌های بیشتر می‌تواند می‌باشد.

#### میزان اسید آمینه متیونین:

نتایج مقایسه میانگین برای اسید آمینه متیونین نشان داد که در بذور رقم گنبد تحت تیمار کلرید جیوه، کلرید کادمیوم و اثر متقابل آن‌ها افزایش معنی داری نسبت به شاهد ملاحظه گردید و در بذور رقم تاجن اختلاف معنی داری در میزان متیونین نسبت به حالت کنترل وجود داشت (شکل ۳). بیشترین و کمترین میزان اسید آمینه متیونین به ترتیب مربوط به تیمار کلرید کادمیوم و شاهد رقم گنبد می‌باشد. متیونین یکی از اسید آمینه‌های ضروری در بذور گندم بوده و به‌عنوان جزء اصلی پروتئین محسوب می‌شود. همچنین در شروع ترجمه mRNA نقش دارد و فرآیندهای ضروری سلول مانند تقسیم سلولی، سنتز دیواره سلولی، سنتز کلروفیل و سنتز



غلظت فلزات سنگین (کلرید کادمیوم (mM) و کلرید جیوه (µM))

شکل ۳- مقایسه میانگین تغییرات میزان متیونین در بذر دو رقم گنبد و تجن گندم تحت تیمار با کادمیوم و جیوه و اثر متقابل هر دو فلز سنگین

جدول ۲- تجزیه واریانس رقم، فلز سنگین و رقم × فلز سنگین و روی صفات فیزیولوژیک در ایجاد مقاومت به فلزات در بذر گندم

منبع تغییر	درجه آزادی	تعداد	تعداد بذر	وزن خشک	وزن صد
رقم	۱	۴/۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۵ <sup>ns</sup>
فلز سنگین	۵	۱۰/۶ <sup>ns</sup>	۱/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۹۴ <sup>ns</sup>
رقم × فلز سنگین	۵	۲۱/۶ <sup>**</sup>	۳/۰۸ <sup>ns</sup>	۳/۶۸ <sup>ns</sup>	۱/۱۷ <sup>ns</sup>
خطا	۲۴	۵/۶	۰/۴۷	۰/۴۹	۰/۳۸
ضریب تغییرات	-	۱۶/۷	۲۲/۸	۲۳/۵	۲۱/۳

<sup>ns</sup>، \* و \*\* به ترتیب به معنای غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

به منظور سازگاری و تحمل بیشتر در جهت مقابله با توسعه و تجمع غلظت‌های مسموم کننده این فلزات سنگین در شرایط تنش تمام انرژی خود را صرف سنتز عوامل دخیل در مکانیسم دفاعی می‌کنند. نتایج حاصل از بررسی صفات اندازه‌گیری شده نشان داد در رقم گنبد تحت تیمار کلرید جیوه و اثرات متقابل کادمیوم و جیوه، میزان قند محلول، پروتئین کل، پرولین، لیزین و متیونین افزوده شد. در رقم تجن با اعمال تیمار فلزات سنگین کادمیوم، جیوه و اثرات متقابل کادمیوم-جیوه، از میزان پروتئین کل، پرولین و لیزین برگ‌ها کاسته شد.

سطح یک درصد معنی دار شده است، در مورد صفات وزن ۱۰۰ دانه، وزن خشک و تعداد بذر در ارقام مورد بررسی گندم (گنبد و تجن) غیر معنی دار می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری کلی:

به طور کلی از نتایج حاصل چنین استنباط می‌شود که تأثیر تنش ناشی از افزایش غلظت کلرید کادمیوم و کلرید جیوه و اثر متقابل این دو فلز سنگین بر فرآیندهای فیزیولوژیک دو رقم گندم متفاوت بوده و هر دو رقم از مکانیسم‌های متفاوتی برای مقابله با تنش فلزات سنگین استفاده می‌کنند. ارقام گندم (گنبد و تجن)



منابع

- ارزانی، ا. ۱۳۸۷. اصلاح گیاهان زراعی (ترجمه). صص ۳۳۴-۳۱۹.
- Ashraf, M., Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and prolin improving plant a biotic stress resistance. *Journal of Experimental Botany* 56: 206-216.
- Abdalla, M. M., El- khoshiban, N. H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticium aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research* 3: 2062- 2074.
- Abioye, O. P., Ijah, U. J. J., Aransiola, S. A. 2013. "Remediation mechanisms of tropical plants for lead -contaminated environment," In *Plant-Based Remediation Processes, Soil Biology*, D. K. Gupta, Ed., vol. 35: 59-77
- Bradford, M. M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry* 72: 248-254.
- Bolton, M. D. 2009. Primary metabolism and plant defense fuel for the fire. *Molecular Plant Microbe Interactions* 22:487-497.
- Bates, L., Waldrem, R., Teare, I. 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Cobbett, C., Goldsbrough, P. 2002. Phytochelatins and metalothioneins: roles in heavy metal detoxification and home ostasis. *Annul Plant Biology* 53: 159- 182
- Cargnelutti, D., Tabaldi, L. A., Spanevello, R. M., Jucoski, G. O., Battisti, V. 2006. Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere*, 65: 999-1006.
- Galili, G., Tang, G., Zhu, X., Gakiere, B. 2001. Lysine catabolism: a stress and development super-regulated metabolic pathway. *Current Opinion In Plant Biology* 4:261-266.
- Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 53: 1-11.
- Isarankura, P., Isarankura, Ch., Kasikun, K., Thipkeaw, K., Prachayasittikul, V. 2009. Proteomic profiling of *Escherichia Coli* in response to heavy metals stress. *European. Journal of Science Research* 25: 679-688.
- Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science* 166: 459-66.
- Kocal, N., Sonnewald, U., 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 Physiology* 148: 1523-36.
- Khatamipour, M., Piri, E., Esmaeilian Y., Tavassoli, A. 2011. Toxic effect of cadmium on germination, seedling growth and prolin content of Milk thistle (*Silybum marianum*). *Annals of Biological Research* 2:527-532.
- Lyne, M. A., Kang, Y. J., Sensi, S. L., Perdrizet G. A., Hightower, L. E. 2007. Heavy metal ions in normal physiology, toxic stress, and cytoprotection, *Annals of the New York Academy Trends in Plant Science* pp. 159-172.
- Losak, T., Hlusek, J., Filipcik, R., Pospisilova, L., Manasek, J., Prokes, K., Bunka, F., Kracmar, S., Martensson, A., Orosz., F. 2010. Effect of nitrogen fertilization on metabolism of essential and non-essential amino acids in field -grown grain maize (*Zea mays* L). *Plant Soil and Environment* 56: 574-579.
- Mishra, R., Tripathi, D., Dwivedi, S., Kumar, S. T. 2009. Thiol metabolism play sign if cant role during cadmium detoxification by *Ceratophyllum demersum* L. *Bioresource Technologies* 100: 2155-2161.
- Mishra, S., Srivastava, S. R., Tripathi, D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V., Prasad, M. N. V. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 25-37.

- Omokolo, N. D., Tsala, N. G., Djocgoue, P. F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. *Annul Botany London* 77: 153-158.
- Pang, X. M., Zhang, Z. Y., Wen, X. P., Ban, Y., Moriguchi, T. 2007. Polyamines, all purpose players in response to environment stresses in plants function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation* 34: 135-148.
- Roje, S. 2006. S-Adenosyl-l-methionine: beyond the universal methyl group donor. *Phytochemistry* 67: 1986-1698.
- Rajarm, S., Braun, H. 2006. Wheat yield potential. In: Raynolds, M. P., Pietragalla, J. and Braun, H. J (Eds), *International symposium on wheat yield potential: Challenges to International wheat breeding*. CIMMYT, Apartado Postal 6-641, 06600, Mexico D. F., Mexico. 3: 103-107.
- Ramon, O., Vazquez, E., Fernandez, M., Felipe, M., Zornoza, P. 2003. Cadmium -stress in white lupine: effects on nodule structure and functioning. *Plant Physiology* 161: 911-919.
- Sairam, R. K., Tyagi, A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407- 421.
- Savabeghi, G. R., Malakooti, M. J. 2000. The effect of zinc and cadmium in concentrations and chemical composition of wheat grain. *Journal of soil and water* 9: 54-65.
- Siddhu, G., Ali Khan, M. A. 2012. Effects of cadmium on growth and metabolism of *Phaseolus mungo*. *Journal of Environmental Biology* 33: 173-179.
- Sigfirdsson, K. G. V., Bernat, G., Mamedov, F., Styring, S. 2004. Molecular interference of  $Cd^{2+}$  with Photosystem II. *BBA-Bioenergetics*. 1659: 19-31.
- Szabados, L., Savoure, A. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15: 89-97.
- Sudhakar, S., Li, Y., Katz, M. S., Elango, N. 2001. Translational regulation is a control point in *RUNX<sub>2</sub>/Cbfa<sub>1</sub>* gene expression. *Biochemical and biophysical research communications* 289: 616-622.
- Song, J. T., Lu, H., Greenberg, J. T. 2004. Divergent roles in *Arabidopsis thaliana* development and defense of two homologous genes, *ABERRANT GROWTH AND DEATH2* and *AGD2-LIKE DEFENSE RESPONSE PROTEIN1*, encoding novel aminotransferases. *Plant Cell* 16: 353-366.
- Verma, S., Dubey, R. S. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biology plantarum* 44: 117-123.
- Zhang, X. X, Fan, X. M, Li, C. J., 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 Regulation* 60: 91-97.
- Zhou, Z. S, Huang, S.Q., Gou, K., Mehta, S. K., Zhang, P. C., Yang, Z. M. 2007. Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. *Journal of Biochemistry* 101: 1-9.
- Zhao, Z. S, Wang, S.J., Yang, Z. M. 2008. Biological detection and analysis of mercury toxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Chemosphere* 70:1500-1509.

## The Effect of Heavy Metals on Some of Amino Acids, Soluble Sugars Content and Total Protein in Two Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.)

Seyede Yalda. Raeesi sadati<sup>1</sup>, Soodabeh. Jahanbakhsh Godekahriz<sup>\*2</sup>

1- M.Sc. Student of Agriculture Biotechnology, University of Mohaghegh Ardabili

2- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili

\*For Correspondence: [jahanbakhsh@uma.ac.ir](mailto:jahanbakhsh@uma.ac.ir)

Received: 31.12.14

Accepted: 06.04.15

---

### Abstract

Heavy metals, by accumulation in soil and uptake by plants, enter into food chain and causes toxicity in the plants and consumers of these plants. Cadmium and mercury are two dangerous and carcinogenic substances that their amounts is increasing in natural ecosystems through human activities resulting in decreased proteins production, interfering with variety of reactions and cell functions and cessation of cell growth and development and in general is a great treat to agriculture. For this purpose, a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted in greenhouse of Mohaghegh university of Ardabil in 1391. The experiment consisted of mercuric chloride treatments (with concentrations of 10 and 20 $\mu$ M), cadmium chloride treatment (0.5 mM), interaction between cadmium and mercury in two levels (10  $\mu$ M of mercury with 0.5 mM of cadmium, 20  $\mu$ M of mercury with 0.5 mM of cadmium) and control seedlings. The results showed that the interaction of both heavy metals leads to an increase in soluble sugar, total protein, proline, lysine and methionine in the Gonbad, but in Tajan cultivar was reduced. According to the plant defense system to reduce the damage caused by various stresses, it seems that the increase in metabolites involved in defense system including soluble sugar, protein and amino acids proline, lysine and methionine in the dome can help increase resistance to stress this figure. In Overall, the Gonbad is resistant varieties as well as possibly susceptible Tajan that is according to the results of other mechanisms for tolerance has used.

**Keywords:** Amino acids, Physiological traits, Heavy metals, Metabolites, Wheat