گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف گندم دوروم (*Triticum turgidum*) از نظر تجمع کادمیم بر اساس برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

سمیه محمدی[۱]، علیرضا پورمحمد[۱*]، عزت‌اله اسفندیاری[۱] و سید بهمن موسوی[۲]

[۱] **ایران، مراغه، دانشگاه مراغه، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی**

[۲] **ایران، مراغه، دانشگاه مراغه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم خاک**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷

چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه و گروه‌بندی ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طراحی و اجرا شد. بررسی ژنوتیپ‌ها در شرایط آزمایشگاهی در آزمایشگاه پژوهشی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۳ انجام شد. گیاهچه‌های پرورش یافته به روش هواکشت، پس از رسیدن به مرحله ۴ تا ۵ برگی، در ۲۵۰ میکرومولار تنش کادمیم قرار گرفتند. بعد از سپری شدن زمان مذکور، وزن خشک برگ، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون اس ترانسفراز (GST)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، عناصر کادمیم، مس، آهن، روی و منگنز اندازه‌گیری شد. ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در سه گروه مجزا گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های گروه دوم (۱، ۳، ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۲) دارای بیشترین میزان وزن خشک برگ، آهن و روی و کمترین میزان کادمیم، مس، H_2O_2، CAT، APX، GPX، GST و MDA بودند. به طور کلی، با توجه به ویژگی‌های مختلف تحمل کادمیم در **ژنوتیپ‌های** مورد مطالعه، می‌توان از آنها در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، تجزیه خوشه‌ای، شاخص‌های تنش اکسیداتیو

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۷۲۷۶۰۶۸-۰۴۱، پست الکترونیکی: pourmohammad@ymail.com

مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum*) پس از گندم نان، مهم‌ترین گونه جنس تریتیکوم است و حدود ۶ تا ۸ درصد از کل گندم‌های تولیدی در دنیا را در بر می‌گیرد. از آن‌جایی که آرد گندم دوروم دارای مقادیر زیادی از گلوتن ضعیف است، برای مصارف نانوایی مناسب نمی‌باشد. اما در عوض دانه‌های سخت و شفاف این گندم در تهیه ماکارونی، اسپاگتی و سایر مصارف کاربرد دارد (۲۲). در بین آلاینده‌های محیطی، آلودگی فلزات سنگین از اهمیت خاصی برخوردار است. زیرا، در اثر جذب فلزات سنگین توسط گیاهان نه تنها کیفیت و عملکرد گیاه کاهش می‌یابد، بلکه تجمع آن در محصولات تولیدی می‌تواند موجب انتقال این عناصر سمی به انسان شده و سلامتی او را به خطر اندازد. در میان فلزات سنگین، کادمیم دارای اهمیت ویژه‌ای است. زیرا، با این‌که جزء مواد معدنی ضروری برای گیاهان زراعی نیست، در صورت وجود سطح بالای آن در محیط رشد، به راحتی توسط ریشه جذب می‌شود و در غلظت‌هایی که برای گیاهان سمی نیست در محصولات کشاورزی تجمع می‌یابد. از نظر جذب و توزیع عناصر کم‌مصرف ضروری و غیر ضروری بین گونه‌ها و ارقام گیاهی تفاوت وجود دارد و این تفاوت‌ها تحت تأثیر عوامل ژنتیکی قرار می‌گیرد. از این رو اصلاح نباتات به عنوان روشی برای بهبود کیفیت گیاهان زراعی از طریق

افزایش میزان عناصر کم‌مصرف مفید و کاهش میزان عناصر کم‌مصرف نامطلوب مانند کادمیم از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. از نظر جذب و تجمع عناصر کم‌مصرف ضروری و غیر ضروری، تنوع طبیعی در گونه‌های گیاهی و ارقام درون گونه‌ها وجود دارد. گزینش ارقام روش جالب توجهی برای تغییر میزان عناصر کم‌مصرف در گیاهان زراعی است. محدود کردن میزان کادمیم در گیاهانی که به مصرف انسان می‌رسند، به منظور کاهش خطرات بالقوه آن برای سلامتی امری ضروری به شمار می‌آید. از این رو اصلاح نباتات به عنوان روشی برای کاهش تجمع کادمیم در گونه‌های زراعی مد نظر قرار می‌گیرد (۱۷). در بررسی تاثیر تنش کادمیم روی سورگوم توسط حسن و همکاران (۱۸)، رشد به طور قابل توجهی کاهش و پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید افزایش یافت. علاوه بر این، تنش کادمیم، فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی اکسیدانی ، از جمله پراکسیداز و کاتالاز را کاهش داد. در مطالعه‌ای دیگر (۲۸) غلظت ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم کادمیم ویژگی‌های مربوط به رشد و سطوح شاخص‌های استرس اکسیداتیو را کاهش داد. ژائو و همکاران (۳۱) اعلام نمودند که کادمیم باعث کاهش رشد، کاهش فتوسنتز، کاهش در انتقال و جذب عناصر و آزاد شدن رادیکال‌های آزاد در گندم می‌شود. کادمیم با ایجاد اختلالات تغذیه‌ای و برهم زدن تعادل آبی گیاه موجب کاهش وزن خشک گندم می‌شود (۶). تحقیقات انجام گرفته توسط سی و همکاران (۱۰) نشان داد که با افزایش کادمیم در محیط رشد، وزن خشک ریشه گندم کاهش یافت. همچنین اختلال در اجرای فرآیند تنفس از دیگر اثرات منفی کادمیم است که می‌تواند منجر به کاهش تولید ماده خشک گردد. افزایش بیان آسکوربات پراکسیداز و فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر تنش فلزات سنگین در گندم به اثبات رسیده است (۲۰). جوادزرین و همکاران (۴) با ارزیابی فعالیت بعضی آنزیم‌های آنتی-اکسیدان تحت سمیت کادمیوم در گندم نشان دادند با افزایش سطح کادمیوم، فعالیت آنزیم CAT کاهش و فعالیت آنزیم APX افزایش یافت. عطاردی و همکاران (۳) در بررسی پاسخ گندم در شرایط تنش کادمیم به این نتیجه رسیدند با افزایش غلظت کادمیم، فعالیت آنزیمی کاتالاز کاهش یافت. در بررسی دیگر (۱) با افزایش غلظت کادمیوم، میزان MDA در گندم در شرایط هیدروپونیک افزایش معنی‌دار پیدا کرد. همچنین نتایج نشان داد که تنش کادمیوم یک افزایش معنی‌دار در فعالیت پراکسیداز و کاتالاز ایجاد کرد. در پژوهش ورجین و همکاران (۲۹)، گندم دوروم در معرض سطح غیرسمی کادمیم قرار گرفت که یکی از ارقام با ذخیره مقدار زیادی کادمیم در ریشه‌ها، از انتقال آن به دانه‌ها جلوگیری کرد.

این پژوهش به منظور بررسی واکنش ارقام گندم دوروم، به تنش کادمیم انجام شد و برخی از معیارهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی موثر در تنش کادمیمی نظیر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و معیارهای فیزیولوژیکی نظیر میزان عناصر کادمیم، مس، آهن، روی و منگنز اندازه‌گیری و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی، طبقه‌بندی شدند.

مواد و روشها

آزمایش با ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم در دو سطح شاهد (صفر) و کادمیم (۲۵۰ میکرومولار) در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اتاقک رشد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در جدول ۱ ملاحظه می‌شود. در این پژوهش بذور یکنواخت ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم، انتخاب و با محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. بعد از سپری شدن این مدت، بذور چندین مرتبه با آب مقطر شستشو گردید. سپس بذور گندم دوروم در ظروف پتری با قطر هشت سانتی‌متر دارای کاغذ صافی متوسط (دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و نور کم) جوانه دار شده و سپس به محیط کشت آیروپونیک منتقل

شدند. برای تغذیه گیاهچه‌های گندم دوروم از محلول غذایی متشکل از عناصر پرمصرف و کم‌مصرف مورد اشاره توسط اسفندیاری و همکاران (۱۵ و ۱۶) استفاده شد.

در طول دوره رشد گیاهچه‌ها، دمای محیط ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس بود (۱۳). گیاهچه‌های گندم دوروم تا مرحله ۳-۲ برگی با محلول ۵۰٪ و سپس تا مرحله ۵-۴ برگی با محلول کامل تغذیه شدند. پس از این مرحله، تنش با استفاده از ۲۵۰ میکرومولار کلرید کادمیم (۳۱) اعمال گردید. محلول‌دهی به صورت محلول غذایی روزانه، بر اساس مرحله رشد گیاه و میزان تبخیر و تعرق انجام شد. گیاهچه‌های گندم دوروم به مدت ۲۴ روز در شرایط مذکور نگهداری شدند. سپس از نمونه‌های برگی برای مطالعات صفات مهم استفاده گردید. جهت جلوگیری از ایجاد عدم تعادل بین عناصر غذایی، محلول‌ها هر هفته دو بار عوض می‌شدند. به علاوه pH محلول‌ها نیز در محدوده ۵/۵-۵/۲ تنظیم شد. بعد از سپری شدن این زمان از برگ‌های جوان و کاملا بالغ نمونه برگی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد ارزیابی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد استفاده در آزمایش

شماره ژنوتیپ	شجره	شماره ژنوتیپ	شجره
۱	Saji	۹	Bisu-1//CHEN
۲	45558	۱۰	Gromtel-1
۳	Gdr2	۱۱	45667
۴	GREEN-14	۱۲	AJAIA-12/F3LOCAL (SEL.ETHIO.1)
۵	1Mna3/Marb	۱۳	45704
۶	45632	۱۴	45868
۷	75MEXICALI	۱۵	Mrf1/Stj2//Bcrch1
۸	8081A-Mar14	۱۶	RASCON-37/2*TARRO-2/3/AJAI

استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سنجش فعالیت آنها، اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن و میزان عناصر: استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان براساس روش اسفندیاری و همکاران (۱۴) صورت گرفت. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب براساس روش‌های ارائه شده در ایبی(۷)، یوشیمورا و همکاران (۳۰) و سایرام و همکاران (۲۶) اندازه‌گیری شد. میزان پراکسید هیدروژن براساس روش مورد اشاره در سرجیو و همکاران (۲۷) ارزیابی شد. میزان عناصر آهن، روی و منگنز براساس روش مورد اشاره توسط عزیزپور و همکاران (۹) سنجش و اندازه‌گیری گردید.

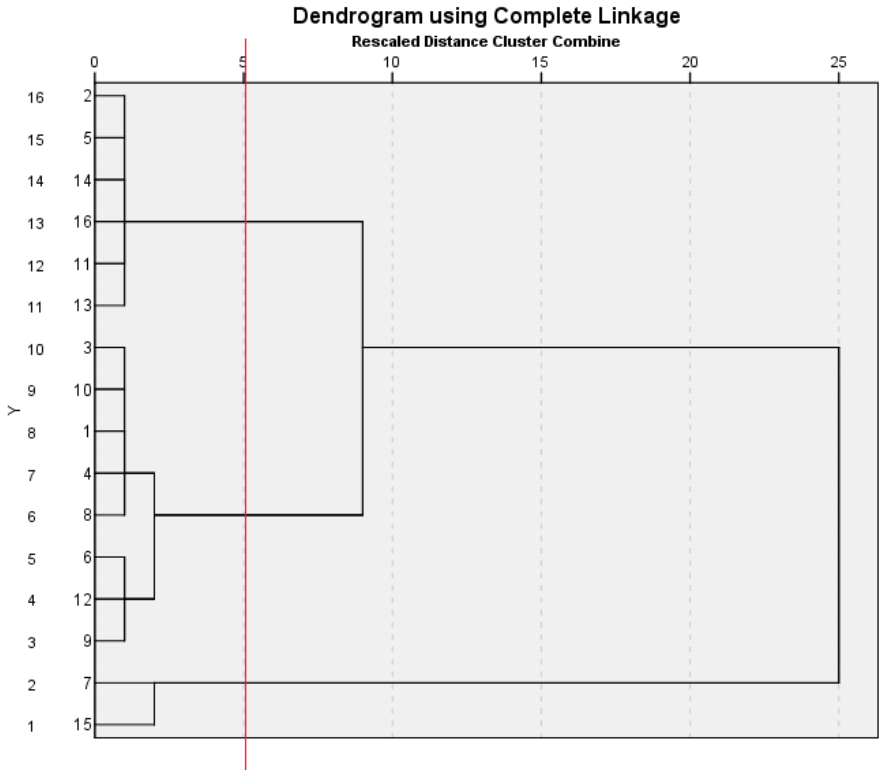
تجزیه آماری

به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد مطالعه از نظر پارامترهای اندازه‌گیری شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش دورترین همسایه‌ها و توان دوم فاصله اقلیدسی بر اساس میانگین استاندارد شده کلیه صفات استفاده شد. نقطه برش دندروگرام با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تعیین گردید. به منظور تعیین خصوصیات هر گروه از نظر صفات مورد بررسی، انحراف از میانگین کل صفت برای هر یک از گروه‌ها محاسبه گردید. همچنین برای بررسی روابط بین متغیرها و تعیین اثر هر یک از پارامترها در گروهبندی ژنوتیپ‌ها تجزیه به مولفه‌های اصلی به کار برده

شد. تجزیه‌های مذکور با استفاده از نرم‌افزار SPSS و NTSYS صورت گرفت.

نتایج

در تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها (شکل ۱) محل برش در جایی که سه گروه مجزا تشکیل گردید انتخاب شد. نتایج این تجزیه نمایانگر تنوع زیاد بین گروه‌ها بود. به منظور تعیین خصوصیات هر گروه از نظر صفات مورد بررسی، انحراف از میانگین کل صفت برای هر یک از گروه‌ها محاسبه گردید. (جدول ۲). دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های ۲، ۵، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۶ در گروه اول قرار گرفتند (شکل۱). ژنوتیپ‌های این گروه دارای بیشترین انحراف از میانگین کل از نظر کادمیم، H_2O_2، APX و عناصر مس و آهن و کمترین منگنز بودند (جدول ۲). در گروه دوم ژنوتیپ‌های ۱، ۳، ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۲ گروه‌بندی شدند (شکل ۱). این ژنوتیپ‌ها، برترین گروه از نظر وزن خشک برگ، آهن و روی بودند و دارای کمترین میزان کادمیم، مس، H_2O_2، CAT، APX، GPX، GST و MDA بودند (جدول ۲). در گروه سوم هم ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۵ جای گرفتند (شکل ۱) که ژنوتیپ‌های این گروه کمترین ماده خشک، آهن، روی و بیشترین منگنز، CAT، GPX، GST و MDA را داشتند (جدول ۲). از نظر اصلاحی، ژنوتیپ‌های گروه دوم مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها می‌باشند چون در آنها ماده خشک افزایش و کادمیم کاهش داشته است و می‌توان آنها را در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار داد.



شکل۱- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گندم دوروم براساس پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به روش دورترین همسایه‌ها

جدول ۲- میانگین و درصد انحراف از میانگین کل سه کلاستر حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورد ارزیابی در ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم

کلاستر		(g/plant) عملکرد دانه	(mg/kg Dwt) پرولین	(mg/kg Dwt) کلروفیل	(mg/kg Dwt) کاروتنوئید	H_2O_2	CAT	APX	GPX	GST	MDA
۱	میانگین	0.135	0.684	0.516	0.959	0.250	0.001	0.015	0.321	1281.96	19.705
	درصد انحراف	-5.568	7.573	5.213	6.160	3.769	13.924	27.446	34.466	17.582	8.313
۲	میانگین	0.158	0.606	0.471	0.935	0.234	0.0005	0.009	0.110	762.805	13.054
	درصد انحراف	10.355	-4.711	-3.777	3.522	-2.838	-18.1435	-26.750	-53.952	-30.035	-28.244
۳	میانگین	0.108	0.611	0.487	0.609	0.241	0.001	0.015	0.507	1825.02	34.209
	درصد انحراف	-24.716	-3.875	-0.530	-32.57	0.044	30.802	24.665	112.409	67.393	88.037

در این پژوهش بسیاری از ارقام گندم مورد مطالعه در کلاستر دوم قرار گرفتند (شکل ۱). از ویژگی‌های بارز ارقام این گروه می‌توان به تجمع کم کادمیم در برگ‌ها اشاره کرد. در ارقام گروه دوم فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن نیز در مقایسه با دو گروه دیگر پائین است که می‌تواند ناشی از تجمع رادیکال سوپراکسید باشد.

در تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس میانگین پارامترهای اندازه‌گیری شده در ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم، پنج مولفه اول با مقادیر ویژه بزرگتر از یک حدود ۸۲/۲۲ درصد تغییرات کل را توجیه کردند. مولفه‌های اول و دوم به ترتیب ۳۳/۴۱ و ۱۸/۰۳ درصد از تنوع کل را تبیین کردند (جدول ۳). برای مولفه اول GST (۰/۹۵۲)، APX (۰/۸۲۹)، MDA (۰/۷۸۳) و GPX (۰/۷۴۱) دارای ضرایب مثبت بزرگ و روی (۰/۵۸۷-) و آهن (۰/۴۴۵-) دارای ضرایب منفی بزرگ بودند. برای مولفه دوم کادمیم (۰/۸۰۱) و روی (۰/۶۵۵) ضرایب مثبت بزرگ و وزن خشک برگ (۰/۴۹۹-) و مس (۰/۳۵۲-) داشتند. در مولفه سوم منگنز (۰/۵۴۰) دارای ضریب مثبت بزرگ و آهن (۰/۵۴۹-) دارای ضریب منفی بزرگ بودند. در مجموع می‌توان مولفه اول را مولفه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نامگذاری کرد. از این مولفه می‌توان در امر گزینش برای ژنوتیپ‌های گندم دوروم استفاده کرد (جدول ۴).

در این راستا نیز برای تعیین ژنوتیپ‌های دارای فعالیت آنزیمی بالا، مقادیر مربوط به مولفه (Factor Scores) اول بکار رفت (جدول ۵). همان طوری که ملاحظه می‌شود ژنوتیپ‌های ۱۵ و ۷ دارای بالاترین مقادیر بودند که منطبق با نتایج به دست آمده در مورد پارامترهای CAT، GPX، GST و MDA این ژنوتیپ‌ها است.

جدول ۳- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی برای ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم

مولفه	مقادیر ویژه اولیه		
	کل	درصد واریانس	درصد تجمعی
۱	۴/۰۱۰	۳۳/۴۱۹	۳۳/۴۱۹
۲	۲/۱۷۰	۱۸/۰۸۳	۵۱/۵۰۱
۳	۱/۳۵۲	۱۱/۲۷۰	۶۲/۷۷۲
۴	۱/۲۹۰	۱۰/۷۵۴	۷۳/۵۲۵
۵	۱/۰۴۳	۸/۶۹۳	۸۲/۲۱۸

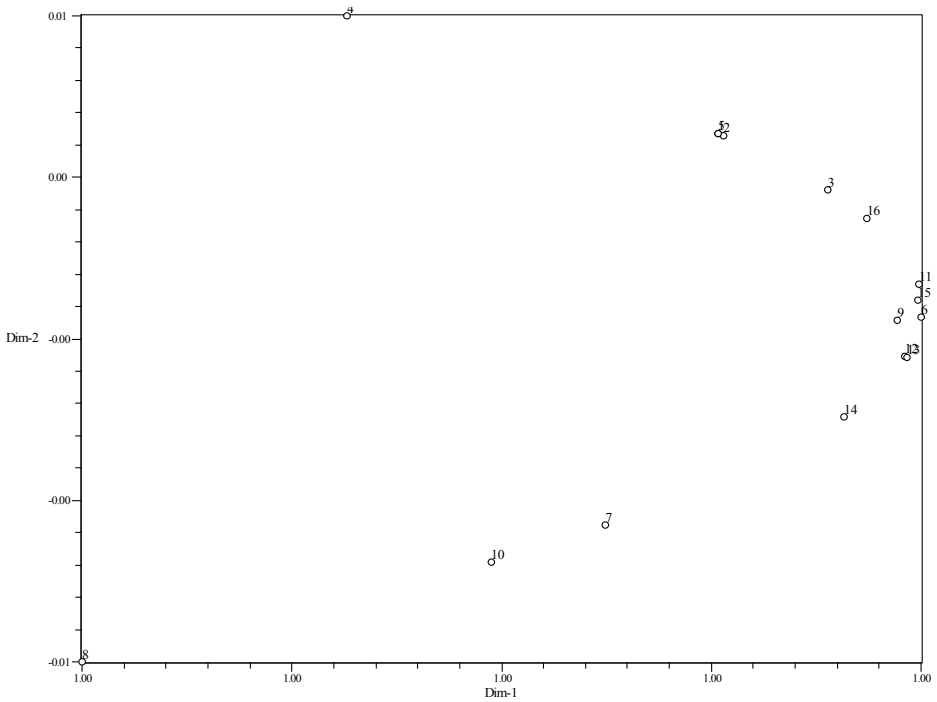
شکل ۲، نمودار دوبعدی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس دو مولفه اول تجزیه به مولفه های اصلی را نشان میدهد. در این نمودار، سه گروه شناسایی شدند. این گروه‌بندی مطابقت زیادی با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای داشت. به عبارت بهتر، دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از دو مولفه اصلی، گروه بندی بر اساس تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد و سه گروه حاصل از تجزیه خوشه-ای، در تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز در دسته‌های جدا از هم قرار گرفتند (شکل ۲). ژنوتیپ‌های گروه دوم با داشتن مقادیر بالای هر دو مولفه به تنهایی در یک گروه مجزا قرار گرفتند. از اینرو، این ژنوتیپ‌ها را می‌توان به عنوان ژنوتیپی که در شرایط کادمیم در مرحله گیاهچه از بیشترین ظرفیت مکانیسم‌های دفاعی خود استفاده می‌کند معرفی نمود.

جدول ۴- ضرایب صفات مورد بررسی در مولفه‌های حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی

صفت	مولفه				
	۱	۲	۳	۴	۵
وزن خشک برگ	-۰/۲۷۱	-۰/۴۹۹	۰/۴۴۶	۰/۱۶۸	۰/۴۵۶
کادمیم	-۰/۲۰۵	۰/۸۰۱	۰/۳۰۲	-۰/۱۸۱	-۰/۲۶۲
مس	۰/۳۲۳	-۰/۳۵۲	-۰/۲۹۴	۰/۶۴۵	-۰/۴۰۸
آهن	-۰/۴۴۵	۰/۵۴۰	-۰/۵۴۷	۰/۰۵۰	۰/۰۰۵
روی	-۰/۵۸۷	۰/۶۵۵	۰/۳۰۰	۰/۲۱۰	-۰/۰۲۱
منگنز	۰/۰۶۹	۰/۲۰۵	۰/۵۴۰	۰/۷۰۵	-۰/۱۵۵
H_2O_2	۰/۳۰۰	۰/۳۷۳	-۰/۳۱۳	۰/۳۲۹	۰/۵۳۰
CAT	۰/۶۳۲	-۰/۰۶۴	۰/۴۰۳	-۰/۳۸۲	-۰/۱۵۲
APX	۰/۸۲۹	۰/۱۰۲	-۰/۱۴۲	۰/۰۰۱	-۰/۳۵۰
GPX	۰/۷۴۱	۰/۴۳۵	-۰/۰۰۶	-۰/۰۲۶	۰/۲۸۸
GST	۰/۹۵۲	۰/۱۶۹	۰/۰۵۴	-۰/۰۳۴	۰/۰۱۵
MDA	۰/۷۸۳	۰/۱۴۷	۰/۱۰۶	۰/۱۱۵	۰/۲۵۸

جدول ۵- مقادیر مولفه‌های اول و دوم برای ۱۶ ژنوتیپ گندم دوروم در تجزیه به مولفه‌های اصلی

ژنوتیپ	مولفه اول	مولفه دوم	مولفه سوم	مولفه چهارم	مولفه پنجم
۱	-۰/۲۳۹۹	-۰/۸۵۲۱	۰/۰۹۶۵	-۱/۲۰۴۵	-۱/۴۱۷۹
۲	۰/۵۹۵۶	۱/۲۵۹۳	۰/۲۷۵۰	-۰/۹۸۴۶	-۱/۰۶۱۸
۳	-۰/۷۱۵۸	۰/۲۸۸۲	۰/۱۹۱۳	۰/۸۰۶۴	-۰/۶۷۴۳
۴	-۱/۰۶۵۳	۰/۲۶۳۸	۰/۸۶۷۷	-۰/۲۵۲۲	-۱/۰۸۸۶
۵	۰/۸۷۰۶	-۰/۳۷۰۱	۰/۸۶۳۰	-۰/۷۲۶۰	۰/۲۶۲۷
۶	-۰/۹۸۰۴	-۰/۳۹۳۴	-۱/۱۳۵۶	۰/۰۷۸۱	۱/۲۱۹۴
۷	۱/۱۲۷۸	۰/۰۸۴۸	۱/۳۲۸۹	۰/۶۳۹۴	-۰/۸۶۷۴
۸	-۰/۴۴۰۹	-۱/۳۲۹۹	۱/۳۵۳۳	۰/۸۳۲۰	۱/۲۴۵۵
۹	-۱/۷۱۲۷	۱/۱۲۸۴	۰/۶۸۲۳	۱/۱۵۱۴	-۰/۰۰۴۹
۱۰	-۰/۲۵۴۳	۰/۵۲۰۰	-۰/۲۷۲۲	-۰/۸۹۷۵	۰/۷۷۷۶
۱۱	۰/۱۶۸۱	-۱/۲۲۷۲	۰/۷۲۴۷	-۰/۴۱۹۲	۰/۳۴۶۷
۱۲	-۰/۸۱۱۱	-۱/۲۶۶۴	-۱/۰۸۹۷	-۰/۵۶۹۲	۰/۶۸۷۶
۱۳	-۰/۳۳۷۴	۰/۶۸۲۶	-۱/۸۰۹۷	-۱/۰۶۲۹	-۰/۶۵۵۸
۱۴	۰/۴۷۳۳	۱/۹۲۹۹	-۰/۴۴۵۵	۱/۲۲۲۶	۱/۰۹۶۶
۱۵	۱/۹۸۸۴	۰/۴۶۷۵	۰/۰۳۳۵	-۰/۷۲۳۷	۱/۳۹۷۴
۱۶	۱/۳۳۳۹	-۱/۱۸۵۵	-۱/۶۶۳۴	۲/۱۱۰۰	-۱/۲۵۹۹



شکل ۲- نمودار دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌های گندم دوروم بر مبنای مولفه‌های اول و دوم حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی

بحث

ارزیابی و بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس فنوتیپ یا صفات قابل اندازه گیری به میزان زیادی متاثر از عوامل محیطی است، زیرا عوامل محیطی هستند که بر بروز صفات فیزیولوژیکی تاثیر می‌گذارند. بالا بودن تنوع صفات در بین ژنوتیپ‌ها، فاکتور مهی در انتخاب آنها در کاشت محسوب می‌گردد (۲۲). نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تنوع ژنتیکی معنی‌داری وجود دارد و برخی از ژنوتیپ‌ها با داشتن صفات مطلوب می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند. تشخیص تنوع این صفات بین ژنوتیپها به بهنژادگر این امکان را می‌دهد تا بر صفات مشخصی که موجب تنوع شده است تمرکز کند. استفاده از تجزیه کلاستر نیز در جداسازی ژنوتیپ‌ها به زیرگروه‌های مشابه براساس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک، به صورت مطلوب عمل کرد. به طور کلی به کمک تجزیه کلاستر و تجزیه به مولفه‌های اصلی مشخص شد که ژنوتیپ‌های تحقیق حاضر، تنوع ژنتیکی معنی‌داری داشته و برخی از ژنوتیپها می‌توانند در برنامه-های بهنژادی به کار گرفته شده و منشأ تولید واریته‌های جدید و اصلاح شده گردند. در مطالعه صارمی راد و همکاران (۴) کادمیوم بر کلیه فرایندهای رشدی گندم تاثیر گذاشت و تنوع قابل ملاحظه‌ای بین ژنوتیپ‌های گندم در سطح بین و درون گونه وجود داشت.

از همکاری آنزیم‌های آنتی اکسیدان با آنتی‌اکسیدان‌ها، چرخه‌های دفاعی شکل می‌گیرند که از مهمترین آنها می‌توان به چرخه‌های مهلر (۸) و گلوتاتیون–آسکوربات (۱۳) اشاره نمود. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر دو چرخه یاد شده نقش کلیدی داشته و پراکسید هیدروژن به آب تبدیل می‌نمایند (۲۳ و ۲۴). با فعالیت این آنزیم به همراه گایاکول پراکسیداز و کاتالاز پراکسید هیدروژن جمع‌آوری و از تجمع آن پیشگیری می‌شود. پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی بوده و در پی تجمع آن، کاهش فعالیت آیزوزیم و آنزیم‌های بی‌فسفاتاز و ریبولوز

مونوفسفات کیناز درگیر در چرخه کالوین اتفاق می‌افتد (۸). افت یا توقف فعالیت آیزوزیم‌های یاد شده سوپراکسید دیسموتاز تعادل بین فعالیت آنزیم تولید کننده پراکسید هیدروژن، سوپراکسید دیسموتاز، و آنزیم جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن را بر هم می‌زند. عدم وجود ویژگی‌های فوق در ژنوتیپ‌های گندم دوروم سبب کاهش توان دفاعی سلول و حساسیت آنها به تنش شوری می‌گردد (۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۲۵). در تجزیه کلاستر، فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن در ارقام گروه دوم در مقایسه با دو گروه دیگر پائین بود که می‌تواند ناشی از تجمع رادیکال سوپراکسید باشد. زیرا که آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به مقادیر بالای رادیکال یاد شده حساس بوده و فعالیت آنها کاهش می‌یابد (۸). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه‌های مهلر و گلوتاتیون-آسکوربات نقش کلیدی ایفا می‌نمایند (۱۳). تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار مقدار پراکسید هیدروژن در گیاه کلزا می‌شود. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش، ولی فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش نشان داد (۵). در همین راستا گزارش شده‌است که فعالیت کم آنزیم‌های پراکسیداز سبب تجمع پراکسید هیدروژن و حساسیت به شوری می‌گردد (۱۱ و ۲۱). بعلاوه حیدری (۱۹) گزارش کرد که افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از افزایش میزان پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی پیشگیری می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر و تجزیه به مولفه‌های اصلی تا حدود زیادی با هم تطابق داشتند و همدیگر را تائید کردند. بعلاوه اگرچه در ارقام متعلق به کلاستر اول، تجمع کادمیم در شرایط تنش بالاست اما به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شدت آسیب به بیومولکول‌ها کاهش یافته و از بروز تنش اکسیداتیو ممانعت شده‌است. در مقابل در ارقام گروه سوم، علیرغم داشتن میزان کمتر عناصر در برگ، شدت وقوع تنش اکسیداتیو بالا بود. احتمال می‌رود که این ارقام از مکانیسم‌های ممانعت از جذب و یا انتقال عناصر به پهنک برگ برخوردار باشند. اما قادر به سم‌زدایی و کاهش اثرات منفی این عناصر در برگ‌ها نباشند. به عنوان نتیجه نهایی، می‌توان اظهار داشت که کادمیوم سبب بروز یکسری تغییرات فیزیولوژیک می‌گردد. بعلاوه اینکه برآیند این عوامل سبب کاهش رشد و نمو گیاه و تولید ماده خشک خواهد شد.

تقدیر و تشکر

این مقاله از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد مصوب و دفاع شده در دانشگاه مراغه استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولان پژوهشی دانشگاه مراغه که ما را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

منابع

۱- بهرامی، ا.، خراسانی، ر.، طاهری، م.، فتوت، ا. (۱۴۰۰). تأثیر سیلیسیوم در کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از سمیت کادمیوم در گندم در شرایط هیدروپونیک. فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۰ (۴۱): ۱۲۹-۱۴۳.

۲- جوادزرین، ا.، متشرعزاده، ب.، احمدی، ع. (۱۳۹۵). ارزیابی فعالیت بعضی آنزیمهای آنتی‌اکسیدان تحت سمیت کادمیوم در دو رقم گندم. نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۶ (۴): ۲۱-۳۷.

۳- عطاردی، ب.، فتوت، ا.، خراسانی، ر.، کشاورز، پ. (۱۳۹۸). بررسی پاسخ گندم به مصرف سلنیم تحت شرایط تنش کادمیم. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۱۲ (۱)، ۲۹۱-۳۰۵.

۴- صارمی راد، ب.، اسفندیاری، ع. ا.، شکرپور، م.، سفالیان، ا.، آوانس، آ.، موسوی، س. ب. (۱۳۹۳). اثر کادمیوم روی برخی از ویژگی-های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک گندم در مرحله گیاهچه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷ (۱): ۱-۱۱.

۵- محمدی، ن.، باقی زاده، ا.، رجایی، پ. (۱۳۹۴). تأثیر بتا آمینوبوتیریک اسید بر محتوای آب نسبی، تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه کلزا تحت تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۸ (۴): ۸۴۴-۸۶۰.

6- Adams, M.L., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Nicholson, F.A., chambers, B.J. (2004). Predicting cadmium concentrations in wheat and barley grain using soil properties. Journal of Environmental Quality, 33: 532-541.

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

8- Asada, K., (2000). The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Philosophical Transactions the Royal of Society London, 355: 1419-1431.

9- Azizpour, K., Shakiba, M., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E., Pessarakli, M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition, 33: 859-873.

10- Ci, D., Jiang, D., Wollenweber, B., Dai, T., Jing, Q., Cao, W. (2010). Genetic variance in cadmium tolerance and accumulation in wheat materials differing in ploidy and genome at seedling stage. Journal of Agronomy and Crop Science, 196: 302-310.

11- Costa P., Neto, A., Bezerra, M., Prisco, J., Filho, F. (2005). Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17: 353-361.

12- Demiral, T., Türkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environment Experiment Botany, 53: 247-257.

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

14- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F., Esfandiari, M. (2007). The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 35: 48-56.

15- Esfandiari, E., Enayati, V., Abbasi, A. (2011a). Biochemical and Physiological Changes in Response to Salinity in Two Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.) Genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39, 165-170.

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

17- Graham, R.D., Welch, R.M., Saunders, D.A., Ortiz-Monasterio, I., Bouis, H.E., Bonierbale, M., (2007). Nutritious subsistence food systems. Advances in Agronomy, 92:69-74.

18- Hassan, M.J., Raza, M.A., Ur Rehman, S., Ansar, M., Gitari, H., Khan, I., Wajid, M., Ahmed, M., Shah, G.A., Peng, Y., Li, Z., 2020. Effect of cadmium toxicity on growth, oxidative damage, antioxidant defense system and cadmium accumulation in two sorghum cultivars. Plants, 9, 1575-1588.

19- Heidari, M. 2009. Antioxidant activity and osmolyte concentration of sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*) genotypes under salinity stress. Asian Journal of Plant Sciences, 8: 240-244.

20- Khan, N.A., Singh, S., Nazar, R. (2007). Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat cultivars differing in yield potential under cadmium stress. Journal of Agronomy and Crop Science, 193:435-444.

21- Koca, H., Ozedemir, F., Turkan, I. (2006). Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*. Biologia Plantarum, 50: 745-748.

22- Marshall, D.R., Langridge, P., Appels, R. (2001). Wheat breeding in new century–preface. Australian Journal of Agriculture Research, 52: 1-4.

23- Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A. (2010). Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: A Review. International Journal of Botany, 6: 136-143.

24- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.

25- Rahnama, H., Ebrahimzadeh, H. (2005). The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. Biologia Plantarum, 49: 93-97.

26- Sairam, R.K., Rao, K.V., Srivastava, G.C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037–1046.

27- Sergiv, I., Alexieva, V., Karanov, E., (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences, 51: 121-124.

28- Thind, S., Hussain, I., Ali, S., Rasheed, R., Ashraf, M.A. (2021). Silicon application modulates growth, physio-chemicals, and antioxidants in wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to different cadmium regimes. Dose-Response: An International Journal, 19 (2): 1-15.

29- Vergine, M., Aprile, A., Sabella, E., Genga, A., Siciliano, M., Rampino, P., Lenucci, M.S., Luvisi, A., De Belli, L. (2017). Cadmium concentration in grains of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). J. Agric. Food Chem., 65: 6240−6246.

30- Yushimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T., Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. Plant Physiology, 123: 223-233.

31- Zhao, Z.Q., Zhu, Y.G., Kneer, R., Smith, S.E. (2005). Effect of zinc on cadmium toxicity-induced oxidative stress in winter wheat seedlings. Journal of Plant Nutrition, 28: 1947-1959.

Grouping Durum Wheat (*Triticum turgidum*) Genotypes for Cadmium Accumulation using Some Biochemical and Physiological Indices

Mohammadi S.[1], Pourmohammad A.[1], Esfandiari E.[1] and Mousavi S.B.[2]

[1]Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, I.R. of Iran

[2]Dept. of Soil sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, I.R. of Iran

Abstract

This study was conducted to comprise and grouping 16 different durum wheat genotypes for activities of antioxidant enzymes at Research Laboratory of Department of Plant Production and Genetics, University of Maragheh, at 2014. Seedlings grown in aeroponic way, after 4-5 leaf stage, were exposed to cadmium stress using 250 µM. Then, dry weight of leaf, enzyme activities of catalase (CAT), glutathione s transferase (GST), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX), amount of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2), elements Cd, Cu, Fe, Zn and Mn were measured. Cluster analysis categorized the genotypes into three distinct groups. The genotypes of second group (1, 3, 4, 6, 8, 9, 10 and 12) had the highest values of dry weight of leaf, Fe and Zn and the lowest values Cd, Cu, H_2O_2, CAT, APX, GPX, GST and MDA. These genotypes were known as tolerant genotypes which those may be applied in durum wheat breeding programs for cadmium tolerance.

Key words: Antioxidant enzymes, Cluster Analysis, Oxidative Stress Indices