دانشگاه تربیت معلم تهران

دانشکده علوم – گروه زیست شناسی

جلسه دفاع از پایان نامه

کارشناسی ارشد زیست شناسی علوم گیاهی- گرایش تکوین گیاهی

عنوان

بررسی اثرات کادمیوم بر جوانه زنی، تکوین دانه رست ها، تغییرات کمی و کیفی پروتئین های دانه رست ها در گیاه *Matthiola chenopodiifolia*

اساتید راهنما

جناب آقای دکتر احمد مجد

جناب آقای دکتر غلامعلی اکبری

استاد مشاور

جناب آقای دکتر سعید آیریان

ارائه دهنده

علی پیروی بادی

زمان :**۲۳ بهمن . ساعت ۱۶**

مکان : **سالن آمفی تئاتر دانشکده علوم**

چکیده

کادمیوم فلزی سنگین است که برای گیاهان سمی می‌باشد. مقادیر سمی کادمیوم ممکن است به طور طبیعی در خاکها وجود داشته‌باشد یا اینکه بوسیله فعالیت‌های صنعتی و معدن کاوی و استفاده از حشره‌کشها و کودهای کشاورزی وارد خاک شود. این عنصر باعث ایجاد تغییرات ساختاری، مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می گردد. با این حال، در بسیاری از خاکهای آلوده به کادمیوم، جمعیت ها و گونه های گیاهی مقاوم دیده می شود که با دو مکانیسم اجتناب و تحمل با سمیت فلز مقابله می کنند. یکی از گیاهانی که می تواند به طور طبیعی در خاکهای آلوده به فلزات سنگین رشد کند، گیاه *Matthiola chenopodiifolia* می باشد که دارای پتانسیل قابل ملاحظه ای برای جذب سرب و روی در برگهای خود، در شرایط طبیعی می باشد. بر این اساس، این گونه گیاهی جهت تحقیقات بیشتر در زمینه مقاومت آن نسبت به فلز سنگین کادمیوم و نیز ایجاد بهترین شرایط برای حداکثر جذب در آن انتخاب گردید. در ابتدا نمونه های خاک و گیاهی از دو منطقه معدنی آلوده به فلز (ایرانکوه) و غیرآلوده (صفه) در اطراف اصفهان جمع آوری و آنالیز شد. در بخشی از تحقیق اثر غلظت های مختلف کادمیوم (۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بر درصد جوانه‌زنی،سرعت جوانه زنی، طول ریشه، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل و شاخص مقاومت ریشه بررسی شد و مشاهده گردید که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی،سرعت جوانه زنی، طول ریشه، وزن خشک گیاهچه‌های حاصل و شاخص مقاومت ریشه در دو جمعیت کاهش معنی داری یافت.در بخش دیگر تحقیق اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر این گیاه در شرایط کشت گلدانی (پرلیت) بررسی شد و مشاهده گردید که افزایش غلظت کادمیوم باعث کاهش معنی داری در وزن خشک اندامهای هوایی و ریشه شده و میزان فلز تجمع یافته در بخشهای هوایی و ریشه با غلظت کادمیوم رابطه مستقیمی دارد. بیشترین مقدار فلز تجمع یافته در بخش هوایی در کشت پرلیت در غلظت ۷۵ میلی گرم در لیترکادمیوم بود که در جمعیت ایرانکوه برابر با ۶۹۸/۷ میکروگرم بر گرم وزن خشک و در جمعیت صفه برابر با ۶۱۸ میکرو گرم بر گرم وزن خشک بود. در شرایط کشت گلدانی (پرلیت) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه و اندامهای هوایی اندازه گیری شد و نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در بخش هوایی بسیار بیشتر از ریشه است و همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو جمعیت ،با افزایش غلظت کادمیوم بطور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بنابراین بنظر می‌رسد که آنزیم کاتالاز در دفاع آنتی اکسیدان در گیاه *M. chenopodiifolia* نقش مهمی رابر عهده دارد. در بخش دیگری از تحقیق میزان پروتئین کل دانه رستهای گیاه *M. chenopodiifolia*درغلظت های مختلف کادمیوم به روش برادفورد اندازه گیری شد و همچنین به لحاظ کیفی، پروتئین کل دانه رست هابه روش الکتروفورز SDS-PAGE بررسی گردید. نتایج نشان داد که میزان پروتئین کل دانه رست ها با افزایش میزان کادمیوم تا غلظت ۷۵ میلی گرم در لیتر،افزایش معنی داری یافت اما غلظت های بالاتر کادمیوم، موجب کاهش میزان پروتئین کل دانه رست هادر این گیاه شد.دربخش انتهایی تحقیق برش دستی و میکروتومی از بخش های ریشه وساقه گیاه*M. chenopodiifolia* دردو منطقه غیر آلوده(صفه)ومنطقه آلوده به فلز(ایران کوه) انجام شد.بررسی و مقایسه برشها نشان داد که کادمیوم اثرقابل توجهی بر ساختار تشریحی وساختار ریشه و ساقه در جمعیت ایرانکوه نداشته است.همچنین ساختار تشریحی و آرایش دستجات آوندی ساقه و ریشه در دو

جمعیت تفاوت چندانی را نشان نمی دهد.بررسی و مقایسه نتایج به دست آمده نشان داد که گیاه *M. chenopodiifolia* دارای مقاومت نسبی به کادمیوم می باشد، چرا که توانسته است به خوبی در خاک آلوده ایرانکوه رشد کند. البته این گیاه بیش تجمع دهنده کادمیوم نمی باشد زیرا بالاترین میزان کادمیوم در نمونه های طبیعی ۳٤ میکروگرم بر گرم وزن خشک است، در حالیکه بیش تجمع دهنده کادمیوم این فلز را با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک تجمع می دهد. همچنین دو جمعیت صفه و ایرانکوه نسبت به کادمیوم رفتار مشابهی دارند و مقاومت نسبی آنها به کادمیوم ذاتی است. بنابراین می توان گفت که گیاه *M. chenopodiifolia* برای کاستن آلودگی های سرب و کادمیوم در مناطق معدنی مناسب است چرا که بیش تجمع دهنده سرب بوده و تجمع کادمیوم نیز در آن بالا می باشد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول

مقدمه

فلزات سنگین

تعریف و طبقه بندی---------- ۱
فلزات سنگین در خاک---------- ۲
نیاز گیاهان به فلزات سنگین ---------- ۳
سمیت فلزات سنگین در گیاهان----------۴
مقاومت به فلزات سنگین---------- ۵
عوامل کلی موثر بر جذب فلزات سنگین---------- ٦
ظرفیت تبادل کاتیونی ---------- ٦
خاک ---------- **PH** ٦
ساختمان خاک ---------- ۷
رقابت کاتیونها با یکدیگر---------- ۷
میکوریزها ---------- ۷
کلات کننده ها ---------- ۸
غلظت فلز در خاک ---------- ۸
میکروارگانیسم های خاک ---------- ۸
ترشحات ریشه ---------- ۹
کادمیوم ---------- ۹
خواص کادمیوم ---------- ۹
اثرات سمی کادمیوم بر گیاهان ---------- ۱۱
مکانیسم جذب کادمیوم ---------- ۱۲
عوامل موثر بر جذب کادمیوم ---------- ۱٤
مقاومت به کادمیوم ---------- ۱٦
ممانعت از حرکت کادمیوم ---------- ۱٦
جلوگیری از ورود کادمیوم ---------- ۱٦
ترشحات ریشه ---------- ۱٦
سنتز فیتوکلایتین ---------- ۱۷
کده بندی ---------- ۱۷
سنتز متالوتیونین ---------- ۱۸
تجمع پرولین ---------- ۱۹
سنتز پروتئین های تنشی ---------- ۱۹

ایجاد تنش اتیلن ---------- ۲۰
میکوریزها ---------- ۲۰
اسیدهای آلی و آمینواسیدها ---------- ۲۱
فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ---------- ۲۱
توزیع کادمیوم در گیاه ---------- ۲۱
جوامع گیاهی در رابطه با فلزات سنگین ---------- ۲۲
گیاهان بیش جمع کننده ---------- ۲۳
استفاده از گیاهان بیش جمع‌کننده در پاک‌سازی محیط‌های آلوده به فلز ---------- ۲٤
روش‌هایی برای بهبود پاک‌سازی خاک‌های آلوده توسط گیاهان ---------- ۲٦
خصوصیات گیاه‌شناسی گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- ۲۸
معرفی خانواده **Brassicaceae** ---------- ۲۸
معرفی جنس *Matthiola* ---------- ۳۰
معرفی گونه *Matthiola chenopodiifolia* **Fisch. & C. A. Mey** ---------- ۳۰
جوانه‌زنی ---------- ۳۱
فعال شدن ---------- ۳۱
هضم و انتقال ---------- ۳۲
رشد گیاهچه ---------- ۳۳
اهداف تحقیق ---------- ۳٤
فصل دوم
مواد و روشها
معرفی مناطق مورد مطالعه ---------- ۳٦
منطقه معدنی ایرانکوه ---------- ۳٦
منطقه صفه ---------- ۳۷
جمع آوری گیاهان و نمونه‌های خاک ---------- ۳۷
جمع آوری گیاهان ---------- ۳۷
اندازه‌گیری مقدار عنصر کادمیوم در خاک ---------- ۳۷
اندازه‌گیری مقدار عنصر کادمیوم در حالت کل خاک ---------- ۳۸
اندازه‌گیری مقدار قابل تبادل عناصر ---------- ۳۸
اندازه گیری **pH** خاک ---------- ۳۸
اندازه‌گیری مقدار عنصر کادمیوم در نمونه‌های گیاهی ---------- ۳۹
بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر،سرعت جوانه زنی، وزن خشک و طول ریشه گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی بذرهای گیاه*Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت ایرانکوه و صفه ---------- ۳۹

جمع‌آوری بذر ---------- ۳۹
بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر جوانه‌زنی،سرعت جوانه زنی و وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی ---------- ٤٠
اندازه گیری طول ریشه گیاهچه‌های حاصل و محاسبه شاخص مقاومت ریشه ---------- ٤٠
آنالیز آماری داده‌ها ---------- ٤١
بررسی پاسخ‌های رشد و مقاومت گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه به غلظت‌های مختلف کادمیوم در شرایط کشت گلدانی(پرلیت) ----------٤١
کشت گلدانی(پرلیت) ---------- ٤١
تعیین وزن خشک ---------- ٤٢
تعیین میزان تجمع فلز در بخشهای هوایی و ریشه گیاه ---------- ٤٢
آنالیز آماری داده‌ها ---------- ٤٣
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه و بخشهای هوایی ----------٤٣
برش دستی ومیکروتومی ازگیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- ٤٤
برش دستی از ریشه و ساقه گیاه *matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت ایرانکوه
وصفه ---------- ٤٤
برش میکروتومی از مرستیم رویشی و زایشی انتهای ساقه گیاه *matthiola chenopodiifolia* ---------- ۴۵
استخراج پروتئین کل و الکتروفورز پروتئین ها ----------٤٦
استخراج پروتئین کل در دانه رستها ----------٤٦
سنجش پروتئین کل دانه رستها ---------- ٤٧
الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین کل ---------- ٤٨
طرز تهیه بافرها و محلولهای لازم ---------- ٤٨
محلول ذخیره آکریلامید ---------- ٤٨
بافر ژل متراکم‌کننده ---------- ٤٨
بافر ژل جداکننده ---------- ٤٨
محلول بافر الکترود یا بافر تانک ---------- ٤٨
محلول بافر نمونه ---------- ٤٩
طرز تهیه ژل زیرین و رویی ---------- ٤٩
تثبیت پروتئین ---------- ٥٠
رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی بلو ---------- ٥٠
رنگبری ژل ---------- ٥١
فصل سوم
نتایج
مقادیر عنصر کادمیوم و pH خاک ---------- ٥٢

مقادیر عنصر کادمیوم در نمونه های گیاهی ---------- ۵۳
مقادیر عنصر کادمیوم در نمونه های گیاهی *Matthiola chenopodiifolia* ---------- ۵۳
اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر،سرعت جوانه زنی، وزن خشک و شاخص مقاومت ریشه گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی بذرهای گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت ایرانکوه و صفه ------ ۵٤
اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر درصد جوانه‌زنی بذرها ---------- ۵٤
اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر سرعت جوانه‌زنی بذر ---------- ۵۷
اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر وزن خشک گیاهچه های حاصل از جوانه زنی ---------- ۵۸
اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر شاخص مقاومت ریشه گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی بذرهای گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت ایرانکوه و صفه ---------- ۵۹
پاسخ‌های رشد و مقاومت گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه به غلظت‌های مختلف کادمیوم در شرایط کشت گلدانی(پرلیت) ----------٦١
اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر وزن خشک بخشهای هوایی در شرایط کشت گلدانی ---------- ٦١
اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر وزن خشک ریشه در شرایط کشت گلدانی ---------- ---------- ٦٤
میزان انباشتگی کادمیوم در بخشهای هوایی در پاسخ به تیمارهای مختلف کادمیوم در شرایط کشت گلدانی(پرلیت) - ---------- ٦٦
میزان انباشتگی کادمیوم در ریشه در پاسخ به تیمارهای مختلف کادمیوم در شرایط کشت گلدانی(پرلیت) - ٦٨
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بخشهای هوایی ---------- ---------- ۷۰
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه ---------- ۷۱
بررسی برش های دستی و میکروتومی از ریشه و ساقه گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت ایرانکوه وصفه ---------- ۷۳
اندازه میزان پروتئین کل دانه رست هادر غلظت های مختلف کادمیوم در گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---- ---------- *۷۵*
بررسی الکتروفورزSDS-PAGE پروتئین کل دانه رست هادر غلظت های مختلف کادمیوم در گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- *۷۷*
فصل چهارم
بحث ---------- ۷۹
ضمیمه ----------
۹٦
منابع ---------- ۱۰۱

فهرست جداول و نمودارها

عنوان صفحه

جدول ۱-۱ غلظت فلزات سنگین در خاک و گیاهان بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم (ppm)---------- ۳
جدول ۳-۱: مقدا ر عنصر کادمیوم در حالت کل و قابل تبادل و pH خاکهای مورد بررسی از دو منطقه صفه و ایرانکوه---------- ۵۲
جدول ۳-۲: مقدار عنصر کادمیوم موجود در برگ های نمونه های طبیعی گیاهی *Matthiola chenopodiifolia* جمع آوری شده از مناطق صفه و ایرانکوه---------- ۵۳
نمودار ۳-۱: مقایسه اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر درصد جوانه زنی دو جمعیت و ایرانکوه---------- ٥٦
نمودار ۳-۲: اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای گیاه*Mattiola chenopodiifolia* ۵۷
نمودار ۳-۳: اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر وزن خشک گیاهچه های حاصل از جوانه زنی بذرهای دو جمعیت گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- ۵۹
نمودار ۳-٤: مقایسه اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر شاخص مقاومت ریشه در دو جمعیت از گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- ٦۰
نمودار۳-۵: مقایسه اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر وزن خشک بخشهای هوایی گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت گلدانی (پرلیت) ---------- ٦۲
نمودار ۳-٦: مقایسه اثر غلظت های مختلف کادمیوم بر وزن خشک ریشه گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت گلدانی (پرلیت) ---------- ٦۵
نمودار ۳-۷: مقایسه میزان فلز تجمع یافته تحت اثر غلظت های مختلف کادمیوم را در بخشهای هوایی گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت گلدانی (پرلیت)--------- ٦۷
نمودار ۳-۸: مقایسه میزان فلز جذب شده و تجمع یافته تحت اثر غلظت های مختلف کادمیوم را در ریشه گیاه *Matthiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت گلدانی (پرلیت)---------- ٦۹
نمودار ۳-۹: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در بخشهای هوایی گیاه *Matthiola chenopodiifolia* تحت غلظت های مختلف کادمیوم و در دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت پرلیت---------- ۷۱
نمودار ۳-۱۰: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در ریشه گیاه *Matthiola chenopodiifolia* تخت غلظت های مختلف کادمیوم و در دو جمعیت صفه و ایرانکوه در شرایط کشت پرلیت---------- ۷۲
نمودار ۳-۱۱ مقدار پروتئین کل تحت اثر غلظت های مختلف کادمیوم در دانه رست های گیاه *Mattiola chenopodiifolia*---------- ۷٦

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱ خلاصه ای از مکانیسم های سلولی برای تحمل و سمیت زدایی فلزات سنگین در گیاهان عالی---------- ۵

شکل ۱-۲ طرح کلی از مکانیسم‌های درگیر در جذب، کده بندی و جابجایی کادمیوم در ریشه گیاهان که در دو سلول نشان داده شده‌است---------- ۱٤

شکل ۱-۳ نمای کلی مکانیسم های درگیر در کده بندی واکوئلی کادمیوم---------- ۱۸

شکل ۱-٤ میزان جذب آب در مراحل مختلف جوانه‌زنی ---------- ۳۲

شکل ۱-۵ طرح کلی چگونگی تجزیه نشاسته ذخیره‌ای درآندوسپرم---------- ۳۳

شکل ۳-۱: پاسخ جوانه زنی بذر گونه *Matthiola chenopodiifolia* دو جمعیت صفه و ایرانکوه به غلظت های مختلف کادمیوم---------- ۵۵

شکل ۳-۲: اثر تیمارهای با غلظت ۰ و ۱۲/۵ و ۲۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم بر دو جمعیت صفه و ایرانکوه از گیاه *Matthiola chenopodiifolia* در شرایط کشت پرلیت----------٦۳

شکل ۳-۳: اثر تیمارهای با غلظت ۵۰ و ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم بر دو جمعیت صفه و ایرانکوه از گیاه *Matthiola chenopodiifolia* در شرایط کشت پرلیت---------- ٦۳

شکل ۳-٤: اثر تیمارهای با غلظت ۰ و ۳۷/۵ و ۷۵ میلی گرم در لیتر کادمیوم بر دو جمعیت صفه و ایرانکوه از گیاه *Matthiola chenopodiifolia* در شرایط کشت پرلیت---------- ٦٤

شکل ۳-۵ برش دستی بخش ساقه گیاه *Mattiola chenopodiifolia* از دو منطقه صفه و ایرانکوه---------- ۷٤

شکل ۳-٦ برش دستی ریشه گیاه *Mattiola chenopodiifolia* از دو جمعیت صفه و ایرانکوه شکل۳-۷ برش میکروتومی از ریشه گیاه *Mattiola chenopodiifolia* ---------- *۷٤*

شکل ۳-۸ برش میکروتومی ازمریستم رویشی انتهای ساقه گیاه *Mattiola chenopodiifolia ۷۵*

شکل ۳-۹ برش میکروتومی ازمریستم زایشی انتهای ساقه گیاه*Mattiola chenopodiifolia* - *۷۵*

شکل ۳-۱۰ : الکتروفورزSDS-PAGE پروتئین کل دانه رست هادر غلظت های مختلف کادمیوم در گیاه *Matthiola chenopodiifolia* ---------- *۷۷*

فصل اول

مقدمه

۱-۱ فلزات سنگین

۱-۱-۱ تعریف و طبقه بندی

در بین عناصر جدول تناوبی حدود ۸۰ عنصر به دلایل خصوصیات ویژه از جمله رسانایی گرمایی و الکتریکی و چگالی بالا در گروه فلزات واقع شده اند. در این میان چگالی همه فلزات یکسان نبوده و این امر موجب جداسازی گروهی از فلزات به عنوان فلزات سنگین شده است.

فلزات سنگین[1] یک نام عمومی است که به گروهی از عناصر داده می‌شود که وزن مخصوص بالاتر از ۶ گرم بر سانتیمتر مکعب دارند (Alloway, 1995). برخی نیز این نام را به عناصر با وزن مخصوص بالاتر از ۵ گرم بر سانتیمتر مکعب اطلاق می کنند (Shaw, 1989; Gadd, 1993). همچنین فلزات سنگین عناصری با خصوصیات فلزی (انعطاف پذیری، رسانایی، پایداری مانند کاتیونها، لیگاند اختصاصی و غیره) با عدد اتمی بزرگتر از ۲۰ تعریف می شوند (Kabata-Pendius and Pendius, 1992).

در یک تقسیم بندی کلی یونهای فلزات سنگین را بر اساس اسیدیته لوئیس[2] و تمایل آنها به لیگاندهای مختلف در دو گروه مجزا قرار می دهند. گروه اول شامل یونهای فلزی نرم مانند جیوه، کادمیوم، نقره، مس و پلاتین است که ترجیحا از طریق پیوند کووالانسی با لیگاندهای قطبی پیوند شده گروه دوم شامل یونهای فلزی

1. Heavy Metals
2. Lewis Acidity

آهن، روی، نیکل، کبالت و سرب می باشد که بیشتر تمایل دارند با لیگاندهای واسطه از قبیل آمین ها، آمیدها و ایمین ها پیوند شوند (Nieboor and Richardson, 1980).

۱-۱-۲ فلزات سنگین در خاک

فلزات سنگین ترکیباتی هستند که به طور طبیعی در خاک وجود دارند یا در نتیجه فعالیت های انسان وارد خاک می شوند. گداختن فلزات، فعالیت های معدن کاوی، استفاده از سوخت های فسیلی، به کاربردن کودها وحشره کش ها و تولید فاضلابهای شهری از مهمترین فعالیت های انسانی است که خاک را با مقادیر زیادی از فلزات سنگین آلوده می کنند (Wihterhalder, 1995; Sandalio *et al*., 2001; Milton *et al*., 2003). بالا رفتن غلظت فلزات سنگین در خاک باعث ایجاد سمیت و بازداشتن رشد و از بین رفتن بسیاری از گیاهان می شود (Shaw, 1989). فلزات سنگین در خاک غیر قابل تجزیه هستند و به علت جذب توسط گیاهان و ورود به زنجیره های غذایی به عنوان آلاینده محسوب می شوند و سلامتی انسان را به مخاطره می اندازند. تحرک فلزات سنگین در خاک در مقایسه با عناصر دیگر کمتر است و برخی ار آنها هنگام اضافه شدن به خاک ترکیباتی با حلالیت کم را تشکیل می دهند (Hooda and Alloway, 1993; Ma *et al*., 1997).

فلزات سنگین در خاک به حالات زیر وجود دارند (Tessier *et al*., 1979):

- یون های فلزی آزاد و کمپلکس های فلزی محلول در محلول خاک
- پیوند با بارهای منفی ترکیبات غیرآلی خاک در محل تبادلات یونی
- پیوند شده با مواد آلی خاک، رسوب با اکسیدها، هیدروکسیدها و کربنات ها
- حضور در ساختمان کانی های سلیکاتی

فلزات فقط در دو حالت اول به سرعت توسط ریشه گیاهان جذب می شوند (Lasat, 2000).

در جدول۱-۱ غلظت فلزات سنگین در خاک و گیاهان به طور متوسط ذکر شده است (Drabaek *et al*., 1992; Alloway *et al*., 1995; Reeves *et al*., 2000; Blaylock *et al*., 2000).

جدول ۱-۱ غلظت فلزات سنگین در خاک و گیاهان بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم (ppm)

نام عنصر	مقدار عنصر در خاک	غلظت بحرانی درخاک	مقدارمتوسط در خاکهای غنی از فلز	مقدار طبیعی در گیاهان
کادمیوم	۰/۰۱ – ۲	۳ – ۸	۱۱ – ۳۱۷	۰/۱ – ۳
کروم	۵ – ۱۵۰۰	۷۵ – ۱۰۰	۴۷ – ۸۴۵۰	۰/۲ – ۵
مس	۲ – ۲۵۰	۶۰ – ۱۲۵	۵۲ – ۵۰۹۰۰	۵ – ۲۵
جیوه	۰/۰۱ – ۰/۵	۰/۳ – ۵	۱۰۰ – ۴۰۰	۰/۱ – ۹/۵
نیکل	۲ – ۷۵۰	۱۰۰	۱۹ – ۱۱۲۶۰	۱ – ۱۰
سرب	۲ – ۳۰۰	۱۰۰ – ۴۰۰	۳۸۷۰ – ۴۹۹۱۰	۰/۱ – ۵
روی	۱ – ۹۰۰	۷۰ – ۴۰۰	۱۰۹ – ۷۰۴۸۰	۲ – ۴۰۰

۱-۱-۳ نیاز گیاهان به فلزات سنگین

فلزات سنگین را می توان بر اساس نیاز گیاهان و عملکرد آنها در سه گروه قرار داد (Williams *et al.*, 2000):

۱- گروهی که مورد نیاز گیاهان هستند و افزایش آنها در گیاه سمیت را به وجود نمی آورد مانند کلسیم و منیزیم

۲- گروهی که گیاه به آنها نیاز دارد ولی اگر مقدار آنها از حد خاصی تجاوز کند باعث بروز سمیت برای گیاه می شوند مانند مس و روی

۳- گروهی که گیاه به آنها نیاز ندارد و عملکرد بیولوژیکی شناخته شده ای در گیاهان ندارند و افزایش آنها باعث ایجاد حالت سمیت برای گیاه می شود مانند سرب و کادمیوم

براساس نقش فلزات در گیاهان می توان آنها را به صورت زیر تقسیم کرد (Alloway, 1995):

۱- فلزاتی که در ترکیب و ساختار گیاه وارد می شوند (مانند کلسیم در پکتات کلسیم تیغه میانی)

۲- فلزاتی که برای فعالیت آنزیمها مورد نیاز هستند(مانند روی برای فعالیت آنزیم آلدولاز)

۳- فلزاتی که جزء ترکیب اساسی آنزیم ها و برخی پروتئین های خاص هستند (مانند مس در سیتوکروم اکسیداز)

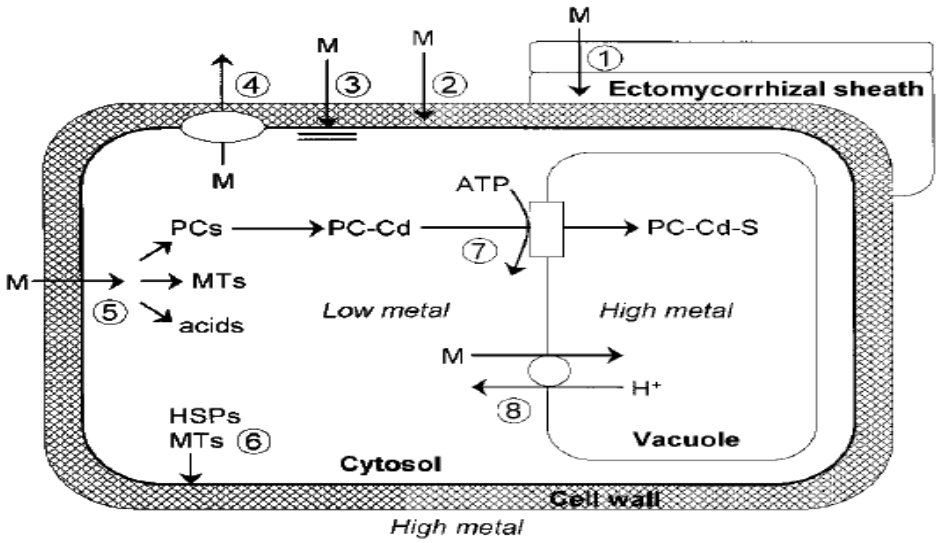
۱-۱-٤ سمیت فلزات سنگین در گیاهان

سمیت فلزات سنگین در گیاهان نتیجه پاره ای از واکنش ها در سطح سلولی و ملکولی است سمیت ممکن است ناشی از پیوند فلزات با گروه های سولفیدریل پروتئین ها باشد که مانع از فعالیت آنها می شود یا باعث تغییر و تخریب ساختمان آنها می گردد، یا نتیجه جایگزینی فلز سمی به جای یک عنصر ضروری می باشد مانند جایگزینی کادمیوم به جای روی (Van Assche and Clijsters, 1990). علاوه بر این افزایش فلزات سنگین ممکن است تشکیل گونه های فعال اکسیژن را تحریک کند و نتیجه آن ایجاد استرسهای اکسیداتیو است (Dietz *et al.*, 1999). این گروه از عناصر در گیاهان باعث کاهش رشد و کاهش بیوماس شده و اختلالات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاهان ایجاد می کنند (Sharma *et al.*, 2003). آسیب رساندن به ساختار غشاها، ایجاد کلروز و آسیب رساندن به ریشه ها از اثرات دیگر فلزات سنگین در گیاهان است (Chatterjee *et al.*, 2000). همچنین باعث کاهش تولید کلروفیل شده و بر روی ناحیه سطحی تیلاکوئیدها اثر می کنند و فعالیت آنزیم های زنجیره انتقال الکترون را مختل می کنند (Mengel *et al.*, 2001; Peralta *et al.*, 2001). یکی دیگر از اثرات فلزات سنگین در گیاهان کاهش تولید پروتئین ها و به ویژه آنزیم ها و افزایش آمینواسیدهای آزاد می باشد(Molas *et al.*, 2001).این عناصر معمولا میزان جوانه زنی بذرهای گیاهان را کاهش می دهند(Uveges *et al.*, 2002) و بر روی فتوسنتز و فعالیت های تولید مثلی گیاه اثر بازدارندگی دارند (Ogava *et al.*, 1995; Peralta *et al.*, 2003).

۱-۱-۵ مقاومت به فلزات سنگین

استراتژی های متنوعی برای اجتناب و مقاومت به فلزات سنگین در گیاهان وجود دارد. روشهای خارج سلولی شامل نقش میکوریزها، دیواره سلولی و ترشحات خارج سلولی است. در داخل پروتوپلاسم نیز مکانیسم های متعددی وجود دارد. برای مثال تعمیر پروتئین های زیان دیده بر اثر استرسها و حفاظت از آنها در برابر تنش ها می باشد که برای مثال توسط پروتئین های شوک حرارتی انجام می شود. همچنین کلاته شدن فلز بوسیله متالوتیونین ها ، اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پپتیدها انجام می شود. علاوه بر این کده بندی و انتقال فلز به واکوئل از اثرات سمی فلز می کاهد.

سازوکارهای ذکر شده فوق در شکل ۱-۱ خلاصه شده است (Marschner, 1995).



شکل ۱-۱ خلاصه ای از مکانیسم های سلولی برای تحمل و سمیت زدایی فلزات سنگین در گیاهان عالی:

۱- محدود شدن حرکت فلز به ریشه توسط میکوریزها

۲- پیوند شدن با دیواره سلولی و ترشحات ریشه

۳- کاهش عبور از غشای پلاسمایی

۴- ترشح فعال به آپوپلاست

۵- کلایت شدن در سیتوزول بوسیله لیگاندهای مختلف

۶- حفاظت و تعمیر غشا تحت شرایط استرسی

۷- انتقال به واکوئل به وسیله کلایت کننده

۸- انتقال مستقیم و تجمع در واکوئل

۱-۱-٦ عوامل کلی موثر بر جذب فلزات سنگین

اصلی ترین عامل موثر بر جذب فلزات سنگین میزان در دسترس بودن فلز جهت جذب توسط گیاه می باشد. البته دو عامل دیگر یعنی میزان فعالیت جذب توسط گیاه و کارایی انتقال و تجمع فلز جذب شده در گیاه نیز موثر می باشد (Clemens, 2006). میزان در دسترس بودن فلزات سنگین به عوامل متعددی بستگی دارد که مهمترین آنها با توضیحی مختصر در زیر آمده است:

۱-۱-٦-۱ ظرفیت تبادل کاتیونی[3]

مهمترین فاکتور تنظیم کننده میزان دسترسی فلز ظرفیت تبادل کاتیونی خاک می باشد. ذرات رس خاک دارای بار منفی هستند و به طور برگشت پذیر با بارهای مثبت(کاتیونها) پیوند می شوند. کاتیونهای جذب شده توسط ذرات خاک برای جذب گیاه قابل دسترس نیستند (Moore *et al.*, 1995). کاتیونهای فلزی مختلف با میل ترکیبی متفاوت جذب ذرات خاک می شوند. برای مثال مس محکم تر از روی به سطح ذرات خاک پیوند می شود و روی نسبت به نیکل و کادمیوم پیوند محکم تری دارد (Atanassova, 1999).به همین دلیل میزان در دسترس بودن یک فلز ممکن است با وجود فلزات دیگر افزایش یا کاهش یابد (Atanassova, 1992).

۱-۱-٦-۲ pH خاک

pH غلظت یونهای هیدروژن در یک محلول مانند خاک است و بر اساس مقیاس لگاریتمی اندازه گرفته می شود. pH به صورت قابل توجهی بر روی ظرفیت تبادل کاتیونی خاک اثر می گذارد، زیرا در pH پایین یون هیدروژن محکم تر از سایر کاتیونها به ذرات خاک پیوند می شود و باعث در دسترس قرارگرفتن سایر کاتیونها می شود.(Garcia-Miragaya and Page, 1978). بنا بر این در شرایط اسیدی میزان در

[3] . Cation Exchange Capacity

دسترس بودن فلز برای جذب توسط گیاه بیشتر می شود که گیاهان بر اساس همین استراتژی برای جذب مواد مغذی اسیدهای آلی را به درون خاک آزاد می کنند.

۱-۱-٦-۳ ساختمان خاک

ظرفیت تبادل کاتیونی بین انواع خاکها متفاوت است که بوسیله مقدار نسبی ذرات رس موجود تنظیم می شود. خاکهای ماسه ای یا سیلت نسبت به رس ظرفیت تبادل کاتیونی کمتری دارند و در این خاکها کاتیونها بیشتر قابل دسترس هستند، اما کاتیونها اغلب قبل از اینکه مورد استفاده گیاه قرار گیرند، بوسیله آب شسته می شوند (Vangeronsveld, 1990).

۱-۱-٦-٤ رقابت کاتیونها با یکدیگر

میل ترکیبی کاتیونها برای پیوند با ذرات خاک با یکدیگر متفاوت است. برای مثال مس و روی در اتصال به ذرات خاک نسبت به کادمیوم و نیکل میل ترکیبی بیشتری دارند. همچنین کاتیونهای مختلف برای مکان های جذب ریشه نیز با هم رقابت دارند (Cieslinski, 1996).

۱-۱-٦-۵ میکوریزها

میکوریزها در اجتماع با ریشه های گیاهان یافت می شوند و یک ارتباط همزیستی بین آنها دیده می شودکه گیاهان مواد فتوسنتزی را جهت متابولیسم قارچها فراهم می کنند و در مقابل قارچها عناصر ضروری را از خاک گرفته و در اختیار گیاه قرار می دهند. تحقیقات نشان داده است که میکوریزها در جذب عناصر فلزی از خاک تاثیر دارند و اغلب باعث افزایش جذب عناصر می شوند، البته میزان افزایش جذب با شرایط خاک نظیر غلظت عنصر و pH متفاوت است (El-Kherbavy, 1989; Guo *et al*., 1996).

۱-۱-٦-٦ کلات کننده ها

کاتیونهای فلزات سنگین ، حتی در شرایط مناسب خاک نیز به مقادیر قابل توجهی به ذرات خاک باند شده اند. این میل ترکیبی کاتیونها برای باند شدن، حرکت کاتیونها را در گیاهان آوندی خصوصا در آوندهای چوبی ممانعت می کند. راه حل این مشکل کلات کردن فلز است که طی آن کاتیون با ترکیب خاصی پیوند شده و در نتیجه ترکیبی بدون بار به وجود می آید که می تواند آزادانه حرکت کند. چندین کلات کننده، هم طبیعی و هم مصنوعی شناخته شده اند که این نقش را در خاک و گیاهان انجام می دهند.از کلات کننده های طبیعی می توان فیتوکلایتین ها، متالوتیونین ها و اسیدهای آلی را میتوان نام برد و از کلایت کننده های مصنوعی می توان EDTA[۴] و EGTA[۵] را نام برد.

۱-۱-٦-۷ غلظت فلز در خاک

غلظت فلز در خاک یکی از اصلی ترین عواملی است که ارتباط مستقیمی با میزان فلز در دسترس برای جذب در گیاهان دارد.هر چه میزان فلز در خاک بیشتر باشد،جذب آن توسط گیاه افزایش می یابد.

۱-۱-٦-۸ میکروارگانیسم های خاک

میکروارگانیسم های خاک با مکانیسم های متعددی قادر به تغییر مقدار فلز در دسترس برای جذب هستند. برای مثال میکروارگانیسم ها واکنش های احیایی را انجام می دهند که بر میزان تحرک فلز در خاک و تمایل ریشه به جذب فلز تاثیر می گذارد (Lasat, 2001). همچنین میکروارگانیسم ها باعث تغییر خصوصیات شیمیایی خاک در ناحیه ریزوسفر می شوند مانند اسیدی یا قلیایی کردن ریزوسفر و یا تولید ترکیباتی که حلالیت فلز را کاهش می دهد (Kelley and Tuovinen, 1988).

---

[4]. Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid
[5]. Ethylen Glycol Tetra Acetic Acid

۱-۱-٦-۹ ترشحات ریشه

ریشه گیاهان دارای ترشحات خاصی است که بر میزان در دسترس بودن فلزات در منطقه ریزوسفر موثر است وباعث افزایش جذب توسط ریشه می شود (Romheld and Marschner, 1986).شواهدی وجود دارد که گیاهان علفی دسته ای از ترکیبات آلی را ترشح می کنند که اصطلاحا سیدروفور[6] نامیده می شوند و می توانند آهن در دسترس خاک را برای جذب توسط ریشه افزایش دهند (Takagi *et al*., 1984). گونه هایی از دولپه ایها با ترشح یونهای هیدروژن باعث اسیدی کردن محیط ریزوسفر می شوندکه باعث افزایش فلزات در دسترس برای جذب می شود (Bienfait *et al*., 1982).

۱-۲ کادمیوم

۱-۲-۱ خواص کادمیوم

کادمیوم یک عنصر شیمیایی است که در جدول تناوبی عناصربا نشان Cd و با عدد اتمی ۴۸ و عدد جرمی ۱۱۲/۴ است که در حالت استاندارد به صورت جامد است و فلز انتقالی می‌باشد. این عنصر بیشتر در سنگهای معدنی روی یافت می شود. کادمیوم عنصری فلزی نرم به رنگ سفید مایل به آبی که در سال ۱۸۱۷ توسط Fredrich Stromeyer دانشمند آلمانی کشف گردید. او این عنصرجدید را درون یک ناخالصی در کربنات روی پیدا کرد.کادمیوم فلزی دو ظرفیتی می‌باشد و از بسیاری جهات شبیه روی است اما ترکیبات پیچیده بیشتری به وجود می‌آورد. معمولی‌ترین حالت اکسیداسیون کادمیوم ۲+ می‌باشد گرچه نمونه‌های کمیابی از ۱+ را می‌توان پیدا کرد. این عنصر به گروه ۱۲ و دوره ۵ جدول تناوبی تعلق دارد و در حالت استاندارد جامد و غیر قابل اشتعال است. این عنصر از نظر فراوانی در پوسته زمین در جایگاه ۶۴ قرار دارد (Adriano, 1986). این عنصر دارای چگالی ۸/۶ گرم بر سانتیمتر مکعب، نقطه ذوب ۳۲۱/۰۷ درجه سانتیگراد و نقطه جوش ۷۶۷ درجه سانتی گراد است. مقدار این عنصر در خاک به طور متوسط حدود ۱ میلی گرم در کیلوگرم وجود دارد(Peterson and Alloway, 1979).

[6] . Siderophores

کادمیوم به‌طور طبیعی شامل ۶ ایزوتوپ پایدار است. ساختمان بلوری آن به شکل زیر می‌باشد:

این عنصر از طریق فعالیت های معدن کاوی، استخراج و پردازش سنگهای معدنی روی، آبکاری فلزات، استفاده از سوخت های فسیلی، استفاده از کودهای فسفاته و حشره کشها در کشاورزی و فاضلابهای شهری و صنعتی وارد خاک می شود (Salt *et al*., 1995; Milton *et al*., 2003; Sankaran and Ebbs, 2007). به طور متوسط سالانه حدود ۲۵۰۰۰ تن کادمیوم وارد محیط زیست می شود. از کادمیوم در صنایع رنگ سازی، ساخت مواد مقاوم کننده پلاستیک‌ها، آبکاری الکتریکی فلزات و باطری های نیکل- کادمیوم استفاده می شود.

این فلز سنگین و سمی به تنهایی، ناپایدار است و بیشتر به صورت نمک‌های کادمیوم یافت می‌شود و به راحتی جذب گیاهان و جانوران شده و سبب آسیب‌های سلولی و بافتی می‌شود. این فلز یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان است و هیچ عملکرد بیولوژیکی شناخته شده ای ندارد (Yang, 1995; Marchiol *et al*., 1996; Vassilev, 1998). هنگامی که مقدار کلی آن درخاک به ۸ میلی گرم بر کیلوگرم برسد برای گیاهان سمی می باشد (Kabata-Pendius and Pendius, 1992; Bohn *et al*.,1985). کادمیوم جذب مواد آلی موجود در خاک می شود و جذب آن از طریق غذا افزایش می یابد. در خاکهای اسیدی، گیاهان کادمیوم بیشتری را جذب می کنند (Ramachandran, 1999). در نتیجه زندگی و بقای جانورانی که از این گیاهان تغذیه می کنند به خطر می افتد. کرمهای خاکی و دیگر ارکانیسمهای خاک به سم کادمیوم بسیار حساسند. غلظت بسیار کم این ماده هم آنها را از بین می برد و در نتیجه ساختار خاک تغییر می کند. هنگامی که غلظت کادمیوم در خاک بالا باشد، فرآیندهایی که میکروارگانیسمها در خاک انجام می هند، مختل می شود و کل اکوسیستم خاک در معرض خطر قرار می گیرد (Mc Grath *et al*., 2000; Pichtel *et al*., 2000)

در اکوسیستمهای آبی، کادمیوم در صدفهای رودخانه ای، صدفها، میگوها، خرچنگها و ماهی ها تجمع می یابد. حساسیت جانداران مختلف آبزی نسبت به کادمیوم متفاوت است. جانداران آب شور نسبت به سم

کادمیوم مقاومتر از جانداران آب شیرین هستند. جانورانی که کادمیوم را می خورند یا می‌نوشند، دچار فشار خون بالا، بیماریهای کبد و صدمات مغزی و نخاعی می شوند (Stohs and Bagchi, 1995).

کادمیوم از طریق گیاهان وارد زنجیره های غذایی می‌شود و از این طریق وارد بدن انسان می شود. کادمیوم و ترکیبات آن بسیار سمی هستند و در بدن باعث آسیب رساندن به کبد و کلیه می شوند(Sanita di Toppi *et al*., 1999) کادمیوم در ابتدا توسط خون به کبد می رود. در کبد کادمیوم به پروتئین ها متصل می شود و کمپلکسی را تشکیل می دهد که به کلیه می رود. کادمیوم در کلیه تجمع می یابد و باعث اختلال فرآیند تصفیه می شود. این امر باعث دفع پروتئینهای ضروری و قند از بدن می شود و به کلیه آسیب می رساند. دفع کادمیوم تجمع یافته در کلیه به مدت زمان زیادی نیاز دارد (Haas, 2003; Kang and Jin, 2004; Geng *et al*., 2005).

۱-۲-۲ اثرات سمی کادمیوم بر گیاهان

کادمیوم در گیاهان باعث کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش متابولیسم کربوهیدراتها، ایجاد کلروز و کاهش رشد می گردد (Van Assche *et al*., 1988; Moya *et al*., 1993; Sharma *et al*., 1998). این عنصر باعث کاهش جوانه زنی بذرهای گیاهان و کاهش محتوای لیپیدی می شود (Uveges *et al*., 2002). کادمیوم باعث اختلال در جذب و انتقال عناصری مانند منگنز، کلسیم، منیزیم، فسفر و پتاسیم می گردد و در جذب و انتقال آب نیز اختلال ایجاد می نماید (Godbold and Huttermann, 1985) و از باز شدن روزنه ها جلوگیری می کند (Kovalchuk, 2001). همچنین باعث کاهش جذب نیترات شده و از فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ممانعت می کند و انتقال نیترات را از ریشه به ساقه باز می دارد (Hernandez *et al*., 1996) و تثبیت آمونیوم را در گرهک ها کاهش می دهد (Balestrasse *et al*.,2003).

در سطح سلولی این عنصر باعث جلوگیری از تقسیم سلولی، آسیب رساندن به کروموزومها، پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تغییر ساختار و نفوذپذیری غشاها می شود (Siegel, 1977; Das *et al*., 1997; Kovalchuk, 2001; Clemens, 2006) و باعث آسیب رساندن به فتوسیستم های I و II شده (Siedlecka and Krup, 1996) و همچنین از فعالیت برخی آنزیم ها مانند گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز، گلوتامات دهیدروژناز، مالیک آنزیم، گلوتامات سنتاز ایزوسیترات دهیدروژناز، روبیسکو و کربنیک انهیدراز و