دانشگاه تربیت معلم
دانشکده علوم پایه
گروه زیست شناسی

پایان نامه
جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی- علوم گیاهی
گرایش فیزیولوژی

موضوع

بررسی اثرات برهم کنش کادمیوم و پتاسیم بر فتوسنتز و رشد در گیاه سویا (*Glycine max* (L.) Merr)

استاد راهنما
جناب آقای دکتر رمضانعلی خاوری نژاد

استاد مشاور
سرکار خانم دکتر فرزانه نجفی

نگارش
اکرم قربانپور

پاییز ۸۷

فهرست مطالب

فصل اول – مقدمه

۱-۱- مشخصات گیاه شناسی سویا..... ۱
۱-۲- نیازهای اکولوژیکی سویا..... ۲
۱-۳- کادمیوم..... ۳
۱-۴- اثرات کادمیوم بر سلامتی..... ۴
۱-۵- اثرات زیست محیطی کادمیوم..... ۵
۱-۶- اثر کادمیوم بر گیاه سویا ۶
۱-۷- دسترسی زیستی کادمیوم..... ۸
۱-۸- مکانیسم‌های جذب و جابجایی کادمیوم..... ۱۱
۱-۹- مکانیسم های سلولی در پاسخ به تنش کادمیومی..... ۱۲
۱-۱۰- فیتوکلاتین‌ها..... ۱۳
۱-۱۱- متالوتیونین‌ها (MTs)..... ۱۴
۱-۱۲- سنتز فیتوکلاتین ها..... ۱۴
۱-۱۳- کده بندی واکوئلی..... ۱۵
۱-۱۴- پروتئین‌های تنشی..... ۱۷
۱-۱۵- پتاسیم..... ۱۷
۱-۱۶- نقش های پتاسیم در گیاهان ۱۸
۱-۱۷- برهم کنش میان کادمیوم و پتاسیم..... ۲۰

فصل دوم- موا و روش ها

۲-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز..... ۲۳
۲-۲- ابزارمورد نیاز..... ۲۴
۲-۳- دستگاه های مورد نیاز..... ۲۴
۲-۴- روش کاشت ونگهداری گیاه ۲۶
۲-۵- مراقبت های بعدازکاشت ۲۸
۲-۶- آنالیز رشد..... ۳۰
۲-۷- آنالیز گازی..... ۳۱
۲-۸- سنجش رنگیزه های فتوسنتزی..... ۳۳
۲-۹- سنجش کربوهیدرات ها..... ۳۴
۲-۱۰- سنجش میزان مالون دی آلدهید..... ۳۶

۲-۱۱- سنجش میزان پرولین ۳۶
۲-۱۲- سنجش پروتئین ها..... ۳۷
۲-۱۳- محاسبات آماری..... ۴۰

فصل سوم – نتایج

۳-۱ نتایج مربوط به آنالیز رشد..... ۴۱
۳-۲- نتایج مربوط به آنالیز گازی..... ۵۹
۳-۳- نتایج مربوط به اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی..... ۶۵
۳-۴- قند محلول و قند نامحلول برگ..... ۷۴
۳-۵- نتایج مربوط به پراکسیداسیون لیپید ریشه..... ۷۸
۳-۶- نتایج مربوط به پرولین برگ..... ۸۰
۳-۷- نتایج مربوط به غلظت پروتئین کل..... ۸۲
۳-۸- نتایج مربوط به آنزیم کاتالاز برگ..... ۸۴
۳-۹- نتایج مربوط به آنزیم پراکسیداز برگ..... ۸۶

فصل چهارم – بحث و تفسیر

۴-۱ تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر رشد و تولید گیاه سویا..... ۸۸
۴-۲ تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر فتوسنتز، تنفس و نقطه جبران CO_2 ..... ۹۲
۴-۳ تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر محتوی رنگیزه برگ..... ۹۵
۴-۴- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر میزان قندهای محلول و نا محلول برگ ۹۷
۴-۵- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر مقدار پراکسیداسیون لیپید ریشه..... ۹۹
۴-۶- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر میزان پرولین در برگ..... ۱۰۰
۴-۷- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر میزان پروتئین برگ.....۱۰۱
۴-۸- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ.....۱۰۱
۴-۹- تاثیر برهم کنش کلرید کادمیوم و سولفات پتاسیم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ.۱۰۲
۴-۱۰- جمع بندی.....۱۰۴

فصل پنجم : منابع

منابع.....۱۰۵

چکیده

تاثیر متقابل کلرید کادمیوم در غلظت های ۰، ۵ و ۲۰ میکرو مولار و پتاسیم درغلظت های ۲۳۴، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر بر روی برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه سویا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش کادمیوم موجب کاهش میزان رشد نسبی(RGR)، میزان همگون سازی خالص(NAR)، میزان رشد نسبی برگ(RLGR)، سطح ویژه برگی(SLA)، نسبت R/S، میزان سطح برگی(LA)، وزن خشک ریشه (RDM)، وزن خشک اندام هوایی (SHDM) و محتوای آب برگ در واحد سطح (LWCA) گردید و پتاسیم در شرایط تنش کادمیوم، آثار کادمیوم را تا اندازه ای بهبود بخشید. همچنین افزایش کادمیوم با کاهش شدت فتوسنتز، غلظت کلروفیل ها، کاروتنوئیدها و افزایش شدت تنفس و نقطه جبران CO_2 برگ ها همراه بود. کادمیوم موجب کاهش محتوای قندهای محلول برگ گردید و با افزودن پتاسیم، محتوای کربوهیدرات ها افزایش نشان داد. با افزایش کادمیوم میزان پراکسیداسیون لیپید ریشه افزایش یافت و حضور پتاسیم در شرایط تنش کلرید کادمیوم موجب کاهش این پارامتر گردید. همچنین کادمیوم موجب افزایش غلظت پرولین برگ ها شد و حضور پتاسیم در سطح ۳۰۰ میلی گرم در لیتر در شرایط تنش کلرید کادمیوم موجب کاهش این پارامتر گردید. غلظت پروتئین کل برگ ها در حضور کادمیوم افزایش نشان داد که در نتیجه بر هم کنش پتاسیم و کادمیوم، کاهش پروتئین کل برگ ها مشاهده شد. با افزایش غلظت کادمیوم، فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز برگ ها افزایش یافت. در تیمار های بر هم کنش ۳۰۰ میلی گرم در لیتر پتاسیم و ۵ میکرو مولار کلریدکادمیوم، افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز مشاهده شد، در صورتی که در تیمار های برهم کنش ۴۰۰ میلی گرم در لیتر پتاسیم و ۲۰ میکرو مولار کادمیوم، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزودن یون پتاسیم به محیط گیاهان تیمار شده با کلرید کادمیوم، اثرات سمی کادمیوم کاهش می یابد.

Abstract

The effects of interaction between $CdCl_2$ (0, 5, 20 µM) and potassium (234, 300, 400 mg l^{-1}) on some physiological parameters in soybean (*Glycine max* L. Merr cv. williams) plants were studied. Cadmium decreased relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), relative leaf growth rate (RLGR), specific leaf area (SLA) and leaf water content per unit area (LWCA). Addition of potassium moderated cadmium effects in treated plants. Increased cadmium consisted with decreased photosynthetic rate, chlorophylls and carotenoids contents, enhanced both respiration rate and CO_2 compensation concentration. Under cadmium stress conditions, potassium enhanced photosynthetic rate, chlorophylls and carotenoids contents and decreased respiration rate and CO_2 compensation concentration. Under Cd stress without K, soluble sugar contents were decreased and insoluble sugar contents were increased but addition of potassium increased this. In all of plants treated with $CdCl_2$, malondialdehyde (MDA) and proline contents increased, however, in solutions containing both $CdCl_2$ and potassium, MDA and proline contents decreased. By increasing the cadmium, protein contents were increased but addition of potassium decreased this. Under cadmium stress conditions, catalase and peroxidase activity were increased but K application (300 mg l^{-1}) increased the catalase and peroxidase activity at 5 µM Cd and decreased them at 20 µM Cd. The results indicated that in cadmium treated plants increasing potassium added to plants, decreased the toxic effects of cadmium in treated plants.

Teacher Training University
Faculty of science
Department of Biology

Research Title

The effects of interaction between cadmium and potassium on growth and photosynthesis in soybean (*Glycine max* (L.) Merr) plant.

Supervisor
Dr. R.A. Khavari-Nejad

Abvisor
Dr. F. Najafi

Prepared By
Akram Ghorbanpoor

Dec. 2008

۱-۱- مشخصات گیاه شناسی سویا

سویا از دیدگاه سیستماتیکی به شاخه Magnoliophyta، رده Magnoliopsida، زیر رده Rosoideae، راسته Fabales تعلق دارد. خانواده (Leguminosae) بعد از تیره کاسنی یکی از بزرگترین تیره های نهاندانگان می باشد، که شامل ۵۵۰ جنس و حدود ۱۳۰۰ گونه می باشد. این تیره شامل گیاهانی است که به اشکال گوناگون علفی، بوته ای، چوبی، درختچه ای کوچک و گاهی درختی دیده می شوند. گیاهان این تیره در نواحی مختلف کره زمین بویژه در نواحی معتدله و سرد یافت می شوند (قهرمان، ۱۳۷۳).

سویا به خانواده لگومینوز Leguminosae، زیر خانواده پروانه آسا Papilionoideae و جنس *Glycine* تعلق دارد و ارقام زراعی آن با نام علمی (*Glycine max* (L.) Merr.) شناخته می شوند.

جایگاه سیستماتیکی گیاه سویا به شرح زیر است:

شاخه	Magnoliophyta
رده	Magnoliopsida
زیر رده	Rosoideae
راسته	Fabales
تیره	Leguminosae
زیر تیره	Papilionoidae
جنس	*Glycine*
گونه	*Glycine max*

سویا گیاهی است یک ساله به طول ۵۰ -۶۰ سانتی متر با برگ های سه قسمتی، دارای گلهای سفید یا بنفش که بصورت گل آذین در زیر برگ هاست. این گیاه به خاطر دانه های سرشار از پروتئین آن کشت داده می شود.

۱-۲- نیازهای اکولوژیکی سویا

سویا یک محصول فصل گرم است ولی در حال حاضر زراعت آن از مناطق استوایی تا عرض های ۵۲ درجه گسترش یافته است. سویا نسبت به درجه حرارت حساس است و در محیط هایی با درجه حرارت بین ۱۰ و ۴۰ درجه سانتی گراد در طول فصل رشد کشت می گردد.

گیاه سویا نسبت به طول مدت تابش نور و شدت نور، جزء حساسترین گیاهان زراعی است. این گیاه روز کوتاه بوده اما ارقام مختلف آن از نظر حداقل دوره تاریکی که باعث گلدهی می شود، متفاوت هستند. سویا را می توان در یک محدوده وسیع خاک هایی با زهکشی مناسب کشت نمود، ولی بیشترین محصول آن در خاکهای رسی- لومی بدست می آید. اسیدیته مطلوب خاک برای تولید سویا بین ۶ تا ۶/۵ می باشد. این گیاه نسبت به شوری تحمل نسبی داشته و آستانه شوری آن حدود ۴ دسی زیمنس بر متر گزارش شده است.

بسته به شرایط آب و هوا، طول دوره رشد و میزان تولید رقم مورد کشت، آب مورد نیاز سویا متفاوت است. نیاز کل آبی سویا در محدوده بین ۳۳۰ تا ۷۶۶ میلیمتر گزارش شده است. نیاز آبی سویا در طول مراحل گیاهچه ای و رسیدگی، کمتر و در طول مرحله گلدهی تا پر شدن دانه حداکثر است. این الگوی مصرف آب می تواند به طور عمومی به کار رود، ولی مقدار آن بسته به شرایط محیطی متفاوت است. برای اجتناب از تنش خشکی در سویا لازم است که آبیاری به گونه ای صورت گیرد که از تخلیه بیشتر از ۵۰ تا ۶۰ درصد آب قابل استفاده گیاه در اطراف ریشه جلوگیری شود. تنش آب به هنگام پر شدن غلاف در کاستن عملکرد سویا اثر چشمگیر دارد. سویا قادر است آب را از عمق ۱/۵ متری جذب کند. این موضوع بیانگر آن است که در شرایط محدودیت نزولات آسمانی، گیاه می تواند تا حد زیادی خشکی را تحمل کند.

۱-۳- کادمیوم

عنصر کادمیوم در طبیعت

کادمیوم یک فلز سفید نقره ای است که با عدد اتمی ۴۸ و جرم اتمی ۱۱۲/۴۰ یک عنصر فلز واسطه می باشد و با روی و جیوه در گروه IIb در جدول تناوبی قرار دارد. این عنصر در ۳۲۱ درجه سانتی گراد ذوب می شود و زمانی که در دماهای بالاتری گرما داده شود، در هوا بخار سمی اکسید کادمیوم را ساطع می کند. کادمیوم به طور گسترده در پوسته زمین در متوسط غلظت $mg\ Kg^{-1}$ ۰/۱ توزیع شده است. هر چند سطوح بالاتر آن در رسوبات سنگ ها و فسفات های دریایی، در حدود $mg\ Kg^{-1}$ ۱۵ حضور دارند (Gesamp, 1984). عمده ترین منبع کادمیوم، سنگ های معدن روی، سرب و مس می باشند.

کادمیوم فشار بخار بالایی دارد. بخار سریعاً اکسید شده و اکسید کادمیوم را در هوا تولید می کند. برخی از نمک های کادمیوم، مثل سولفید، کربنات یا اکسید عموماً در آب نامحلول هستند. هر چند، این ها می توانند در طبیعت تحت تاثیر اکسیژن و اسیدها به نمک های محلول در آب تبدیل گردند. سولفات، نیترات و هالوژنات ها محلول در آب هستند.

میانگین غلظت کادمیوم آب دریا حدود $\mu g\ l^{-1}$ ۰/۱ یا کمتر است (Korte, 1983). آب رودخانه شامل کادمیوم حل شده در غلظت های میان۱و $ng\ l^{-1}$ ۱۳/۵ می باشد (Shiller & Boyle, 1987). در مناطق دور افتاده و غیر مسکونی، غلظت کادمیوم در هوا کمتر از $ng\ m^{-3}$ ۱ می باشد(Korte, 1983). کادمیوم در فضا به عنوان آلوده کننده شناخته نشده است. کادمیوم به سهولت توسط موجودات زنده به خصوص میکرواورگانیسم ها و نرم تنان تجمع می یابد. بی مهرگان خاکی نیز به

نحو چشم گیری کادمیوم را در خود ذخیره می کنند. بیشترین غلظت کادمیوم در کلیه، آبشش و کبد دیده شده است. دفع فلزات از موجودات زنده شاید اساساً از طریق کلیه صورت پذیرد، هر چند که مقادیر چشم گیری نیز می تواند از طریق پوست ریزی در سخت پوستان دفع شود. در گیاهان، کادمیوم ابتدا در ریشه ها و سپس در اندازه کمتری در برگ ها تجمع می یابد.

۱-۴- اثرات کادمیوم بر سلامتی

کادمیوم در پوسته زمین معمولاً در ترکیب با روی یافت می شود. کادمیوم در صنعت به عنوان محصول فرعی و اجتناب ناپذیر دراستخراج روی، سرب و مس می باشد. کادمیوم درکودها و آفت کش ها به کار می رود و از این طریق وارد محیط زیست می شود. کادمیوم عمدتاً از راه غذا وارد بدن انسان می شود. غذاهایی که میزان کادمیوم موجود در آنها بالاست، باعث می شوند که غلظت کادمیوم در بدن انسان به شدت افزایش یابد. از جمله این غذاها، جگر، قارچ، صدف، پودر کاکائو و جلبک دریایی خشک شده هستند. سیگار کشیدن هم باعث می شود که میزان کادمیوم در بدن انسان افزایش یابد. دود توتون، کادمیوم را وارد ریه می کند. خون، این کادمیوم را در بقیه بدن به گردش در می آورد و اثرات آن را در بدن افزایش می دهد. افزایش میزان کادمیوم در افرادی که در نزدیکی محل دفع زباله های خطرناک و یا در نزدیکی کارخانه هایی که کادمیوم را وارد هوا می کنند، زندگی می کنند و در افرادی که در صنعت تصفیه فلز کار می کنند، نیز رخ می دهد. تنفس کادمیوم به ریه آسیب شدیدی وارد می کند و حتی ممکن است باعث مرگ شود. کادمیوم در بدن انسان می تواند منجر به معضلات بسیاری همانند بیماری itai-itai، عدم عملکرد کلیه، صدمه به کبد، ادم ریه و کم خونی گردد (Zhao et al., 2003). کادمیوم ابتدا توسط خون به کبد می رود و در کبد 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 پروتئین های

ضروری و قند از بدن می شود و به کلیه آسیب می رساند. دفع کادمیوم تجمع یافته در کلیه مـدتی طولانی طول می کشد. عوارض دیگری که توسط کادمیوم ایجاد می شود عبارتند از:

- اسهال، شکم درد و استفراغ شدید
- آسیب سیستم عصبی مرکزی
- شکستگی استخوان
- آسیب سیستم ایمنی
- عقیم شدن و نازایی
- ناهنجاری های روانی
- آسیب احتمالی DNA یا سرطان

۱-۵- اثرات زیست محیطی کادمیوم

کادمیوم یک عنصر غیر ضروری در گیاهان می باشد که به عنوان یکی از مخاطره انگیزترین آلوده ساز فلزی عنوان شده است، زیرا سمیت گیاهی را حتی در دوزهای پایین نشان می دهد (Sanità di Toppi and Gabrielli, 1999). کرم های خاکی و دیگر اورگانیسم های خاک به سم کادمیوم بسیار حساسند. غلظت بسیار کم این ماده آنها را از بین می برد و در نتیجه ساختار خاک تغییر می کند. هنگامی که غلظت کادمیوم در خاک بالا باشد، فرآیندهایی که میکرواورگانیسم ها در خاک انجام می دهند، مختل می شود و کل اکوسیستم خاک در معرض خطر قرار می گیرد. کادمیوم موجود در محلول غذایی منفذ روزنه ای، تنفس و فتوسنتز را تحت تاثیر قرار می دهد. کلروز (زردی)، بی حالی و برگ های پیچیده شده نشانه های قابل رویت سمیت به کادمیوم در گیاهان است (Drazic et al., 2004). کادمیوم در جذب، انتقال و استفاده ازچند عنصر (کلسیم، منیزیم، فسفر و پتاسیم) و آب گیاه مداخله می کند. کادمیوم همچنین جذب نیترات و انتقال نیترات را از ریشه ها به ساقه ها بوسیله جلوگیری از فعالیت نیترات ردوکتاز در ریشه ها کاهش می دهد. جلوگیری از فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاه *Silene cucubalus* نیزمشاهده شده است. تناسب نیتروژن و اسیمیلاسیون آمونیومی اولیه در گرهک های گیاه سویا در طی تیمار با کادمیوم کاهش

می یابد. تیمار گیاهان با فلز ممکن است قابلیت نفوذ غشای پلاسما را تحت تاثیر قرار دهد و سبب کاهش در محتوی آب شود. تیمار با کادمیوم مشخص شده که باعث کاهش فعالیت ATPase غشای پلاسمایی ریشه های گندم و آفتاب گردان می شود. کادمیوم تغییراتی را در عملکرد غشاها، بوسیله القای پراکسیداسیون و آشفتگی هایی را در متابولیسم کلروپلاست بوسیله جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل و کاهش فعالیت آنزیم های درگیر در تثبیت دی اکسید کربن ایجاد می کند (Benavides et al., 2005; Cohen ; et al., 1998; Cho and Seo, 2005).

فرایند های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اثرات سمی فلزات سنگین بر روی گیاهان و جانوران متفاوت است. مشهورترین اثر فلزات سنگین بر روی تکامل گیاهان، کاهش رشد می باشد (Cho and Seo, 2005 ؛ Cohen et al., 1998). در معرض قرار گرفتن بسیاری از این فلزات همانند کادمیوم منتج به صدمات چشمگیر همانند کاهش فتوسنتز وتنفس وکاهش جذب مواد غذایی و آب می گردد (Courbot et al., 2004). سطوح سمی کادمیوم فعالیت بسیاری از آنزیم ها را منع می کند، محتوای کلرفیل را کاهش می دهد و منجر به تنش اکسیداتیو می گردد، تثبیت نیتروژن بیولوژیکی و اسیمیلاسیون سولفات را مختل می سازد (Courbot et al., 2004 ; Sanità di Toppi and Gabrielli, 1999).

۱-۶- اثر کادمیوم بر گیاه سویا

کادمیوم مجموعه ای از تغییرات را در گیاهان در سطوح ژنتیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تحریک می کند که منجر به سمیت نوری می شود که نشانه های آشکار آن کاهش رشد بافت و اندام، کلروز برگ و نکروزه شدن ریشه و برگ، کاهش وزن خشک گیاه (Shute and Macfie, 2006)، تغییر در تغذیه کانی و تغییر در متابولیسم کلروفیل می باشد. در بافت های تیمار شده با کادمیوم، ریشه های کوتاه تر، نرم، سبک و قهوه ای مشاهده شد. اثر غلظت‌های بالای کادمیوم به

کار رفته ابتدا دریک کاهش شدید محتوای کلروفیل منعکس می شود. در کنار این اختلال تعادل آب برگ اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش چشمگیر وزن تر برگ می‌شود و این پارامتر ها ممکن است منجر به نشان دادن سمیت نوری گردند (Drazic et al., 2004, 2005). در معرض قرار گرفتن بلند مدت غلظت‌های پایین‌تر کادمیوم، مطابق با غلظت کادمیوم خارجی، تداوم تیمار، گونه گیاه یا ژنوتیپ، سرعت رشد ریشه و اندام هوایی کاهش می‌یابد و در حالت‌های شدید نکروزه شدن ریشه نمایان می‌شود (Drazic et al., 2004). در ریشه و گرهک های گیاهان سویا، کادمیوم منجر به صدمات اکسیداتیو گشته که تثبیت نیتروژن و اسیمیلاسیون را تحت تاثیر قرار می دهد (Balestrasse et al., 2001, 2003). همچنین کادمیوم منجر به نقصان و کمبود عناصر ماکرو و میکرو می شود که ممکن است به علت تغییرات متاثر از کادمیوم باشد بعضی از این تغییرات عبارتند از:

- محتوای پتاسیم در ریشه‌ها کاهش یافته و در برگ‌ها افزایش می‌یابد (Drazic et al., 2004).
- محتوای کلسیم و آهن در ریشه تحت تیمار ۲۰۰ میکرومول کادمیوم کاهش می یابد و در برگ تغییر نیافته باقی می ماند (Marschner, 1995).
- استفاده از غلظت‌های کم کادمیوم در مدت زمان طولانی محتوای فسفر و نیتروژن کاهش می یابد که در حالی که استفاده از غلظت‌های بالای کادمیوم در مدت زمان کم، چنین عوارضی را نشان نمی دهد (Drazic et al., 2004).
- محتوای منیزیم در ریشه در حضور کادمیوم افزایش می یابد که نشان دهنده این مسئله است که منیزیم در فرایندهای مقاومت شرکت دارد (Drazic et al., 2004).
- محتوای منگنز، روی و مس تنها در ریشه کاهش می یابد (Drazic et al., 2004).

تنش کادمیوم منجر به افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS) همانند آنیون های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال های هیدروکسیل می شود. (ROS) با لیپیدها، پروتئین ها، پیگمان ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می د هد و باعث پراکسیداسیون لیپید، صدمات غشایی، فعال شدن یا غیر فعال شدن آنزیم می شود (Dixit et al., 2001). محتوای لیگنین در بافت های تیمار شده با کادمیوم به طور معنا داری افزایش می یابد.

۱-۷- دسترسی زیستی کادمیوم

همانطور که قبلاً اشاره شد، همه کادمیوم خاک برای جذب توسط گیاه قابل دسترس نیست. درجه دسترسی برای جذب، دسترسی زیستی نامیده می شود و توسط چندین عامل تنظیم می شود.

- **ظرفیت تبادل کاتیونی**

مهمترین عامل تنظیم کننده دسترسی زیستی کادمیوم، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) می باشد. کاتیون های فلزی با تمایلات مختلفی جذب میسل ها می شوند، به طوری که مس (Cu) با تمایل بیشتر از روی (Zn) و روی نیز با تمایل بیشتر از نیکل (Ni) یا کادمیوم (Cd) به میسل ها باند می شود. برای مثال، یک نمونه خاک با مس بالا، کادمیوم قابل دسترس تری برای گیاه دارد چون، مس از جذب کادمیوم به میسل ها جلوگیری می کند (Atanassova, 1999). بنابراین ظرفیت تبادل کاتیونی میان انواع خاک ها متفاوت است که توسط مقدار نسبی حضور رس تنظیم می شود (Vangronsveld et al., 1990).

- **pH**

pH به غلظت یون های هیدروژن (H^+) در یک سوبسترا مثل خاک گفته می شود. pH به طور برجسته ای بر روی CEC خاک توسط محدود ساختن مکان های تبادلی قابل دسترس، در H^+ پایین تاثیر می گذارد.

یون های هیدروژن به ذرات خاک محکم تر از دیگر کاتیون ها متصل می شوند، پس هر فلز باند شده به ذرات خاک در حضور فراوانی H^+، جدا خواهد شد (Garcia-Miragaya and Page, 1978). درpH پایین (کمتر از ۶)، H^+ فراوان بوده و جایگزین دیگر کاتیون های میسل خواهد شد، پس آنها را قابل دسترس برای گیاه می نماید. در pH بالا (بیشتر از ۷)، کاتیون ها قابلیت دسترسی کمتری دارند، به این خاطر که آنها رقابت کمتری را با H^+ برای مکان های باند شونده قابل دسترس دارند.

- **کاتیون های رقابتی**

مس و روی با گرایش بیشتری به ذرات خاک باند می شوند. محتوای روی و مس بیشتر برای انتقال کادمیوم سودمند است، چون، این بدان معنی است که کادمیوم بیشتری برای گیاه قابل دسترس است. اضافه نمودن کلسیم به خاک، قابلیت دسترسی زیستی کادمیوم را به وسیله افزایش pH و رقابت با کادمیوم برای مکان های جذب در ریشه، کاهش می دهد (Cieslinski et al., 1996).

منگنز (Mn) نیز برای جذب شدن توسط گیاه با کادمیوم (Cd) رقابت می کند (Kabata-Pendius and Pendius, 1992). ازاین گذشته Clijsters و Van Assche در سال ۱۹۸۵ اثبات نمودند که اثر کادمیوم بر روی متابولیسم گیاهی می تواند از طریق Mn بهبود یابد.

پیشنهاد شده که روی (Zn) ممکن است با کادمیوم (Cd) به خاطر ساختمان مشابه شان، برای جذب به داخل گیاه رقابت کند اما Lombi و همکارانش در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که جذب

کادمیوم و روی به یکدیگر غیر وابسته می باشد که پیشنهاد می کند که دو مکانیسم متفاوت برای جذب دارند.

- **کلاته شدن**

کاتیون های فلزات سنگین حتی در شرایط بهینه خاک در pH پایین و ماده آلی کم اغلب به ذرات خاک باند می شوند.

- **میکوریزا**

قارچ های میکوریزایی آرباسکولار (AM)، با ریشه های کل گیاهان ارتباط دارند. گیاهان برای قارچ ها فتوسنتز انجام می دهند، در عوض، قارچها عناصر ضروری را که شاید در ذرات خاک کمیاب باشند، جمع آوری می کنند. قارچ ها (AM) جذب کادمیوم را تسهیل می کنند، اما این در شرایط مختلف خاک، مثل غلظت کادمیوم و pH فرق می کند. Guo و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که (AM) جذب کادمیوم را ۳۷٪ در لوبیا و ۴۱٪ در ذرت افزایش می دهد، هرچند که El-Kherbawy و همکارانش در سال ۱۹۸۹ نشان داده بودند که (AM) جذب کادمیوم را در یونجه در pH ۷/۲ افزایش می دهند اما جذب کادمیوم را در pH ۶ و pH ۶/۷ کاهش می دهند (pH هایی که باید بیشتر قابل دسترس باشند). در تحقیق دیگری که توسط Heggo و همکارانش در سال ۱۹۹۰ انجام شد، دریافتند که (AM) جذب کادمیوم را در سویا، زمانی که غلظت کادمیوم خاک پایین باشد، افزایش می دهد اما جذب کادمیوم را در زمانی که غلظت کادمیوم خاک بالا باشد، کاهش می دهد.

۱-۸- مکانیسم‌های جذب و جابجایی کادمیوم:

گیاهان توانایی جذب کادمیوم را توسط ریشه دارند (Salt and Rauser, 1995). با توجه به این حقیقت که نگهداری و حفظ کادمیوم در ریشه‌ها حمل آن را به دیگر بخش‌های گیاه کاهش می‌دهد، جابجایی کادمیوم یک عامل موثر است (Arao et al., 2003). جذب کادمیوم در سطح ریشه در بسیاری از گونه‌ها از جمله گندم، ذرت و جو مشخص شده است (Grant et al., 1998; Hart et al., 1998). در اغلب حالات جذب کادمیوم در غشاء پلاسمایی ریشه در نتیجه یک فرایند وابسته به غلظت از طریق یک سیستم حامل صورت می‌گیرد (Das et al., 1997; Hart et al., 1998). دانشمندان عقیده دارند کادمیوم عمدتاً از طریق ترانس پورتر های فلزی جذب می شود (Cohen et al., 1998; Korshunova et al., 1999; Lasat et al., 2000; Pence et al., 2000). کادمیوم جذب شده توسط گیاهان اغلب در ریشه‌ها تجمع می‌یابد(Kokturk, 2006) و پس از حضور طولانی مدت کادمیوم، مقدار کمی از این فلز به اندام هوایی منتقل می گردد. تنوع ژنتیکی در جذب کادمیوم در میان گونه‌های گیاهی و در بین کولتیوارهای یک گونه نشان داده شده است (Li et al., 1997; Grant et al., 1998; Belimov et al., 2003). فاصله طولانی از ریشه ها به اندام هوایی در داخل آوند چوبی حمل می‌شود و جذب دوباره فلزات از زنجیره آوند چوبی توسط سلول‌های مزوفیل برگ صورت می‌گیرد (Raskin and Ensley, 2000).

Tudoreanu و Phillips در سال ۲۰۰۴ به این نتیجه رسیدند که:

۱. یون‌های کادمیوم و کمپلکس‌های کادمیوم اکثراً در سیم‌پلاست پوست ریشه جریان دارند.
۲. کادمیوم ممکن است در عرض غشاءها در شکل یونی و یا کمپلکس شده حمل گردد.
۳. یون‌های کادمیوم ممکن است با دیگر کاتیون‌ها مثل Na^{+}، Ca^{2+}، Zn^{2+} برای حامل‌های عرض غشایی رقابت داشته باشند.

۴. مکانیسم اولیه برای عدم تحرک درون سلولی کادمیوم از طریق تشکیل کمپلکس‌های فیتوکلاتین می‌باشد که کادمیوم را در واکوئل‌ها رسوب می‌دهد.

۵. یون‌های کادمیوم در مسافت‌های طولانی در آوند چوب و آبکش حمل می‌شوند.

۱-۹- مکانیسم های سلولی در پاسخ به تنش کادمیومی:

درگیاهان انواعی از مکانیسم‌های دفاعی در سطح سلولی در پاسخ به تنش کادمیوم مشاهده شده است. بلافاصله بعد از در معرض قرار گرفتن کادمیوم زیاد، سلول‌های گیاهی می توانند مقادیر کلانی از کادمیوم را به صورت اتصال به کلات ها یا پپتیدها، که نوعی فعالیت غیر فعال سازی فیزیولوژیکی کادمیوم در گیاهان می باشد، در سلول ذخیره کنند (Kokturk, 2006). دیواره سلولی ریشه به عنوان اولین بلوکه کننده در برابر تنش کادمیوم از طریق فرایند جلوگیری از تحرک عمل می‌کند. مقاومت در برابر کادمیوم از طریق دیواره سلولی وابسته به غلظت کادمیوم می‌تواند متفاوت باشد. به نظر می رسد که در ریشه‌ها و برگ‌های بوته لوبیا، یون‌های کادمیوم اغلب به مکان‌های پکتیکی و گروه‌های هیستیدیل دیواره سلولی متصل می شوند (Leita et al., 1996). درگیاه *Silen vulgaris* مشاهده شد فلزاتی که در دیواره سلولی اپی‌درمال تجمع یافته‌اند به یک پروتئین یا به سیلیکات‌ها متصل می‌شوند (Bringezu et al., 1999). صدمه به غشاء توسط کادمیوم می تواند در نتیجه مکانیسم‌های مختلفی شامل اکسیداسیون و اتصال متقاطع تیول‌های پروتئینی، مهار پروتئین‌های غشایی کلیدی مثل H^+-ATPase و یا تغییر شکل غشاء باشد (Meharg, 1993). بر طبق گزارشات زیادی سمیت کادمیوم حاکی از تنش اکسیداتیو کاتالیز شده توسط گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد (Ali et al., 2002; Ranieri et al., 2005; Sandalio et al., 2001; Smeets et al., 2005). در بعضی از ژنوتیپ‌های گیاهی، تحمل بالای کادمیوم با مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیداتیو ارتباط دارد. مهار ورود یونهای کادمیوم به داخل سیتوزول از طریق فعال

سازی ناقلین خروجی غشای پلاسمایی، مکانیسم دفاع گیاهی در برابر سمیت کادمیوم مـی باشـد. ریشه گیاهان ترکیبات آلی جهت کمپلکس بـا کـادمیوم ترشـح مـی کننـد کـه از جـذب کـادمیوم جلوگیری می کنند (Marschner, 1995).

۱-۱۰- فیتوکلاتین‌ها

سم زدایی فلزات سنگین و مکانیسم‌های متفاوت کلات شدن فلزات در سیتوزول توسط میل بـالای لیگاندها صورت می گیرد. این لیگاندها ممکن است آمینواسیدها یا اسیدهای آلـی و دو رده مهـم از پپتیدها ، فیتوکلاتین‌ها (PC) و متالوتیونین‌ها (MTs) باشـند (Hall, 2002). زمـانی کـه کـادمیوم وارد سیتوزول می‌شود و با فیتـوکلاتین هـا کمـپلکس تولیـد مـی کنـد، یـک سیسـتم مـرتبط بـا متابولیسم سولفور فعال می‌شود. ساختمان عمومی فیتوکلاتین‌ها $(y\text{-Glu-Cyc})_n\text{-Gly}$ می‌باشد کـه n تعداد تکرار واحد y-Glu-Cyc بوده و بین ۲-۱۱ می‌باشد. در نتیجه حضور گـروه هـای تیـول‌دار سیستئین (Cys)، که با کادمیوم کلات می‌شوند، فیتوکلاتین‌ها با کادمیوم کمپلکس می‌دهنـد کـه منجر به مهار پخش کادمیوم به صورت یون Cd^{2+} آزاد در داخل سیتوزول می گردنـد (Grill et al., 1985). کمپلکسCd-PC ۱۰۰۰ مرتبه سمیت کمتری برای آنزیم‌های بسیاری از گیاهان نسـبت بـه کادمیوم آزاد دارد (Kneer and Zenk, 1992). فیتوکلاتین‌ها از گلوتاتیون به عنوان سوبسترا، توسط آنزیم فیتوکلاتین سنتتاز ساخته می‌شوند (Grill et al, 1989). چنـد دقیقـه بعـد از ورود کـادمیوم آنزیم خود تنظیمی می‌کند و فیتوکلاتین‌ها را برای کلات شدن با کادمیوم سـنتز مـی‌کنـد. کـلات شدن کادمیوم نیاز به فعالیت آنزیم دارد (Loeffler et al., 1989). تیمار کادمیوم و مـس (Cu) در آرابیدوپسیس، نسخه برداری ژن‌های مربوط به سنتز گلوتاتیون را افـزایش مـی‌دهنـد (Xiang and Oliver, 1998). در سلول‌های کشت شده لوبیا یک ارتباط محکم میان حساسیت به کادمیوم بـالا و ضعف سنتز فیتوکلاتین وجود دارد (Inouhe et al., 2000).

۱-۱۱- متالوتیونین‌ها (MTs)

متالوتیونین‌ها (MTs) دومین نوع از پپتیدهای متصل شونده به فلزات هستندکه غنی از سیستئین بوده و عموماً فاقد آمینواسیدهای آروماتیک در گیاهان عالی هستند. آمینواسیدهای سیستئین حاضر در متالوتیونین های گیاهی به صورت Cys-x-Cys و Cys-x-x-Cys می باشند که x، آمینواسیدی غیر از سیستئین می باشد ویا به صورت کلاستر های Cys-Cys هستند (Sanita` di Toppi and Gabrielli, 1999).

رده اول متالوتیونین‌ها (MT1) دارای باقیمانده اسیدی سیستئین می باشد که با متالوتیونین کلیوی پستانداران در یک ردیف قرار می‌گیرد. رده دوم متالوتیونین نیز کلاسترهای سیستئینی مشابهی دارد (Prasad, 1999). در گیاهان گذشته از ژن‌های (MT1) و (MT2)، (MT3) و (MT4) نیز تشخیص داده شده است (Hall, 2002). تعداد زیادی از ژن‌های MT گیاهی در آنژیوسپرم‌ها مشخص شدند. القاء ژن‌های MT1 توسط واریته‌ای از تنش‌ها، شامل آلومینیوم (Al)، کادمیوم، فقر مواد غذایی و نیز شوک حرارتی در برنج اثبات شده است (Hsieh et al., 1995).

۱-۱۲- سنتز فیتوکلاتین ها:

گلوتاتیون(GSH) (یا ترکیبات وابسته) پیش ماده سنتز فیتوکلاتین ها هستند. سنتز فیتوکلاتین ها توسط یون های فلزات سنگین فعال می شود. القاء PCs در حضور Cd با کاهش زودگذر سطوح GSH همزمان می باشد. بسیاری از جزئیات خصوصیات مسیر بیوسنتز فیتوکلاتین از مطالعه قارچ (*Schizosaccharomyces pombe*) وآربیدوپسیس به دست آمده است. موتان هایی از قارچ که فاقد GSH هستند و موتان هایی از آرابیدوپسیس که فاقد PC هستند، دارای حساسیت بالا به