Archive of SID

اثر کادمیوم بر ویژگی‌های ریختی-تشریحی و میزان رنگیزه‌های گیاه نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) واریته۱۰۳ -۴۸ Cp در شرایط درون شیشه

زینب یوسفی[۱]، مریم کلاهی[۲*]، احمد مجد[۱] و پریسا جنوبی[۱]

[۱] **تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی**

[۲] **اهواز، دانشگاه شهیدچمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۲۸

چکیده

کادمیوم یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین است که اثرات مخرب و پایداری بر اکوسیستم‌ها وارد می‌کند. این فلز از طریق خاک وارد گیاه شده و دامنه وسیعی از تغییرات در سطح ماکرو تا سطوح سلولی را سبب می‌شود. در این پژوهش گیاهچه‌های نیشکر حاصل از کشت درون شیشه به مدت ۱۴ روز در شرایط ۸/۱۶ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در غلظت‌های مختلف کادمیوم ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر قرار گرفتند. پس از نمونه‌برداری، ویژگی‌های ریخت شناسی و میزان رنگیزه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. برش‌های دستی از نمونه‌ها تهیه شد و لام‌ها با میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. نتایج حاصل پس از اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفومتری نشان‌دهنده‌ی کاهش شاخص متوسط برگ سبز، کاهش وزن‌تر، کاهش طول ریشه و کاهش ارتفاع می‌باشد. سنجش میزان کلروفیل نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان کلروفیل a, b و کلروفیل کل به طور معنی‌دار کاهش یافت، اما میزان کارتنوئیدها افزایش پیدا کرد. تیمار کادمیوم سبب افزایش ابعاد دهانه‌ی آوندهای چوب، سلول‌های غلاف آوندی و ضخامت در برگ و همچنین افزایش سطوح سلول‌های آوندی، آندودرم، اگزودرم و سلول مغز و پوست در ریشه شد. کادمیوم با تغییر در روابط آبی گیاه و به دنبال آن اثر بر فتوسنتز، تعرق و تنفس، بر ویژگی‌های ریختی و میزان رنگیزه‌های گیاهی نیز موثر است. همچنین این فلز به علت القای تمایز زودرس سلول‌های گیاه به ویژه ریشه سبب تغییرات تشریحی در گیاه نیشکر می‌شود.

واژه¬های کلیدی: رنگیزه، ساختار تشریحی، کادمیوم، ریخت شناسی، نیشکر.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵ ، پست الکترونیکی: m.kolahi@scu.ac.ir

مقدمه

افزایش آلاینده‌های محیطی به ویژه فلزات سنگین، نتیجه‌ی صنعتی شدن جوامع بشری است. به علت افزایش آلودگی و صنعتی‌شدن شهرها، گیاهان تحت تاثیر بازه وسیعی از موادی هستند که باعث آلودگی آب، خاک و هوا می‌شوند. جوامع صنعتی ذرات معلق در هوا و آلاینده‌هایی متشکل از فلزات سنگین را تولید می‌کنند (۵). فعالیت‌هایی چون معدن‌کاری، صنایع ریخته‌گری، لجن و رسوبات باطری اتومبیل، استفاده از کودهای شیمیایی بویژه فسفاته، آفت کش‌ها، خروجی‌های صنایع، افزایش مصرف سوخت‌های فسیلی و سوزاندن زباله‌ها و استفاده از فاضلاب آلوده جهت آبیاری مناطق کشاورزی موجب افزایش روزافزون فلزات سنگین در خاک می‌گردد (۱۱). در استان خوزستان، وجود منابع سرشار نفت و گاز و توسعه روزافزون صنایع مختلف از جمله صنایع فولاد و پتروشیمی موجب بروز مشکلات متنوع در اکثر جنبه‌های زیست محیطی از قبیل افزایش آلودگی هوا، منابع آب و خاک گردیده است (۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

فلزات سنگین به گروهی از عناصر فلزی و شبه فلزی با جرم اتمی بالاتر از ۵۵/۸ گرم بر مول و یا چگالی بیش از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب اطلاق می‌گردد. این عناصر به طور طبیعی و به میزان بسیار کم در اکوسیستم زنده یافت می‌شوند و تعداد اندکی از آن‌ها چون روی و مس برای رشد طبیعی گیاه ضروری می‌باشند. از معضلات این گروه از آلاینده‌های غیر آلی برخلاف آلاینده‌های آلی، تجزیه ناپذیری و پایداری در محیط آبی و خاکی به مدت طولانی می‌باشد (۴). جذب این فلزات توسط گیاه و محصولات کشاورزی و تجمع آن‌ها در زنجیره‌های غذایی، آن‌ها را به خطرناک‌ترین آلاینده زیست محیطی و بهداشتی مبدل کرده است (۳).

کادمیوم از خطرناک‌ترین عناصر فلز سنگین با عدد اتمی ۴۸ است، که در طبیعت به صورت اکسید کادمیوم، سولفات و سولفید کادمیوم وجود دارد. علاوه بر این همراه عناصری مانند قلع، روی و سرب در طبیعت مشاهده شده است. این فلز بیشتر در سنگ‌های معدنی یافت می‌شود اما استفاده عمده آن در صنایع باتری‌سازی، رنگ‌سازی، پلاستیک‌سازی و عملیات آبکاری می‌باشد. کادمیوم از طریق خاک به گیاه می‌رسد و در غلظت‌های بسیار کمتر از عناصر روی، مس و سرب برای گیاه سمی است. کاهش رشد ناشی از وجود کادمیوم در گیاه به دلایلی چون کاهش فتوسنتز، کاهش میزان جذب آب به گیاه به علت عدم رشد کافی، کاهش قابلیت هدایت به ساقه، تداخل یون‌ها و ممانعت جذب ازت و فسفر معدنی در خاک حاصل می گردد. باز شدن روزنه‌ها، تعرق و فتوسنتز تحت تاثیر کادمیوم قرار می‌گیرد. با این حال، بخشی از مکانیسم سمیت کادمیوم همچنان ناشناخته است (۲۷).

از جمله فرآیندهایی که تحت تاثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد، فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی هستند. فتوسنتز یکی از حساس‌ترین فرآیندهای متابولیکی نسبت به سمیت فلزات سنگین است. کاهش زی‌توده گیاه، پیامد مستقیم مسمومیت ناشی از کادمیوم است که به واسطه جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل، کاهش فتوسنتز و ممانعت فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین فتوسنتزی رخ می‌دهد (۳۱، ۱). کادمیوم مانع رشد ریشه و ساقه، تسریع پیری برگ، مقاومت روزنه‌ای، عقیمی و گسیختگی غشای سلولی می‌گردد (۲۹، ۲۵، ۲۴، ۹، ۲). مطالعات کمی بر روی اثر کادمیوم بر ویژگی‌های تشریحی گیاهان صورت گرفته است.

نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) عضو طایفه Andropogoneae از خانواده گندمیان و جزء گیاهان C۴ به‌شمار می‌رود. نیشکر گیاه خاص مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است و در نواحی که میانگین حرارت ماهیانه طی سال حدود ۲۰ درجه سانتیگراد باشد، کشت آن امکان‌پذیر است. امروزه در حدود ۵۰۰۰ گونه نیشکر در دنیا وجود دارد که بسته به شرایط اقلیمی منطقه، تعدادی از گونه‌های مختلف گیاه نیشکر قابل کشت می‌باشند. سطح زیر کشت نیشکر در خوزستان در سال ۱۳۹۲ به مقدار ۱۰۰۰۰۰ هکتار بوده است (۳۷). نیشکر به‌عنوان منبع شکر و بسیاری از فرآورده‌های جانبی مثل کاغذ، نئوپان، صمغ، ملامین، پارچه، الکل و صدها ماده شیمیایی و دارویی دیگر دارای اهمیت اقتصادی بالایی است و در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی از نقطه نظر بازده تثبیت انرژی در واحد سطح در درجه اول اهمیت قرار دارد. این گیاه ۸۰٪ از قند مصرفی جهان را تامین می‌کند که به‌عنوان سوخت حیاتی موجود زنده شناخته شده است (۱۰). نیشکر حدود ۴۵ تن وزن خشک و ۲۲ تن شکر در هکتار در سال تولید می‌کند (۲۶).

گیاه نیشکر به علت تولید زی‌توده‌ی بالا، پتانسیل بالقوه‌ای جهت گیاه پالایی و حذف آلودگی‌های خاک دارد (۳۷). از این رو، در این پژوهش ارزیابی پاسخ‌های دفاعی گیاه نیشکر در برابر تنش کادمیوم و نقش گیاه پالایی آن مورد بررسی قرار گرفت. هدف انجام این تحقیق بررسی اثر فلز

www.SID.ir

Archive of SID

سنگین کادمیوم بر ویژگی‌های ریختی و تشریحی گیاه نیشکر در شرایط *in vitro* می‌باشد. طبق بررسی صورت گرفته تاکنون تحقیقات مشابهی بر روی این گیاه انجام نشده است.

مواد و روشها

تهیه نمونه: قلمه‌های نیشکر واریته Cp ۴۸–۱۰۳ از مزرعه کشت و صنعت نیشکر واقع در شهرستان شوشتر جمع آوری شدند. جوانه‌های انتهایی گیاه به عنوان ریزنمونه پس از شستشوی یک ساعته با آب جاری، در زیر هود به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ و ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت ۲۰٪ سترون سازی شدند. پس از هر مرحله ریزنمونه‌ها چندین مرتبه با آب استریل شستشو داده شدند. جوانه‌های انتهایی در محیط شاخه‌زایی (MS+2mg/L Kinetin+0/05mg/L NAA+ 0/15mg/L GA) کشت گردیدند و هر دو هفته یک‌بار در محیط (MS+2mg/L Kinetin+0/05mg/L NAA) واکشت صورت گرفت. شاخه‌های ایجاد شده پس از ۳ ماه در محیط ریشه‌زایی (MS+0/1 mg/L IAA+0/07 mg/L BAP) کشت گردیده و همچنان هر دو هفته یک‌بار واکشت انجام گرفت. پس از گذشت ۷۵ روز و تشکیل ریشه‌ها، گیاهچه حاصل در محیط پایه MS به همراه غلظت‌های مختلف ۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر $CdCl_2$ در سه تکرار تحت تیمار ۱۴ روزه و در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

ویژگی‌های ریخت شناسی: پس از نمونه‌برداری، وزن‌تر گیاهچه، ریشه و برگ توسط ترازو بر حسب میلی‌گرم توزین گردید. علاوه بر این ضخامت و طول ریشه، طول و عرض برگ، تعداد برگ‌های سبز و خشک اندازه‌گیری شد. سپس شاخص‌های مقاومت ریشه، متوسط برگ سبز و نسبت shoot/root محاسبه گردید.

میانگین طول ریشه تیمار/میانگین طول ریشه شاهد = شاخص مقاومت ریشه

تعداد برگ سبز/ تعداد کل برگ هر گیاهچه = متوسط برگ سبز

سنجش رنگیزه‌ها: ۰/۱ گرم از بافت‌تر گیاهی توسط ازت مایع پودر شده و سپس با استون ۸۰٪ استخراج و پس از صاف نمودن با کاغذ صافی در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب خوانده شد. سپس طبق فرمول‌های زیر غلظت رنگیزه‌ها محاسبه گردید.

$$Chl_a\ (\mu g/ml) = 12/25A_{663}-2/79A_{646}$$
$$Chl_b\ (\mu g/ml) = 21/50A_{646}-5/10A_{663}$$
$$Chl_{Total}\ (\mu g/ml) = Chl_a+Chl_b$$
$$Car\ (\mu g/ml) = (1000A_{470}-1/82Chl_a-85/02Chl_b)/198$$

در این فرمول‌ها Chla، Chlb، Chl_{Total} و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید (کاروتن و گزانتوفیل) برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین شد.

ویژگی‌های تشریحی: نمونه‌های ریشه و برگ در فیکساتور F.A.A به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس از برگ سوم و چهارم هر تیمار و ریشه‌ها (۰/۵سانتی متری منطقه نزدیک به یقه) برش دستی تهیه گردید. پس از رنگ‌زدایی در آب ژاول، با کارمن زاجی و متیلن آبی، عمل رنگ‌آمیزی مضاعف صورت گرفت. پس از تهیه لام، نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مشاهده و عکس-برداری صورت گرفت. جهت آنالیز تصاویر عکس‌برداری شده از نرم افزار Digimizer (Medcalc software co.) استفاده شد (۲۲ و ۱۳).

آزمون آماری: به منظور آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار ۲۰ SPSS استفاده شد. تمام داده‌ها بر اساس میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شدند. سطح معنی‌داری تست‌های آماری در مورد اختلاف آماری بین میانگین پارامترهای مختلف در گروه‌های مورد آزمایش از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

ویژگی‌های ریخت‌شناسی، تشریحی و میزان رنگیزه‌ها در گیاهچه‌های نیشکر شاهد و تحت تیمار کادمیوم در غلظت های ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفته شد.

ویژگی‌های ریخت شناسی: طبق جدول۱ اعمال تیمار کادمیوم منجر به تغییرات ریختی قابل تشخیصی در گیاه نیشکر شده است. افزایش غلظت کادمیوم سبب کاهش وزن‌تر گیاهچه، برگ‌ها و افزایش معنادار وزن‌تر ریشه در گیاه تحت تیمار شد. بطوری که بیشترین میزان وزن‌تر گیاهچه و برگ در نمونه شاهد و کمترین این میزان در تیمار غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید مشاهده شد. اندازه‌گیری و مقایسه میزان طول و عرض برگ سبز حاکی از آن است که اعمال تیمار کادمیوم کلرید بر ابعاد برگ اثرگذار بوده و منجر به کاهش معنادار سطوح برگی شد، بطوری‌که کمترین میزان طول و عرض برگ در غلظت‌های۵۰۰ و۲۵۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید و بیشترین میزان در گیاهچه شاهد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد (جدول۱). طبق جدول۱، ضخامت ریشه تحت تیمار کادمیوم بطور معنی‌داری تغییر کرد و منجر به ضخیم شدن ریشه در شرایط تحت تیمار نسبت به شاهد شد، این در حالیست که در سطوح مختلف تیمار تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p< ۰/۰۵$). شاخص متوسط برگ سبز با افزایش غلظت کادمیوم سیر کاهشی داشته و کمترین میزان این شاخص را در غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید دیده شد، به عبارتی با افزایش غلظت تیمار نسبت تعداد برگ‌های سبز به تعداد کل برگ گیاه کاهش یافت. مقایسه کمّی و آماری میزان شاخص root/shoot نشان دهنده‌ی کمترین مقدار این شاخص در غلظت ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر است ($p< ۰/۰۵$).

طبق بررسی انجام گرفته شاخص مقاومت ریشه نیز تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار کادمیوم تغییر کرد. بطوری‌که با اعمال تیمار این شاخص رو به کاهش بود و کمترین میزان آن را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر مشاهده شد. به عبارتی نسبت میانگین طول ریشه تحت تیمار نسبت به ریشه گیاه شاهد در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر بیشترین میزان کاهش را بروز داد ($p< ۰/۰۵$).

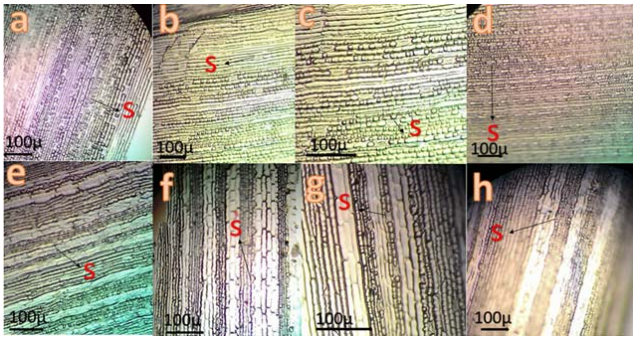
سنجش رنگیزه‌های گیاه: مقایسه نتایج حاصل از سنجش میزان رنگیزه‌های گیاهی نشان دهنده‌ی کاهش معنادار میزان کلروفیل a (Chla)، کلروفیل b (Chlb)، کلروفیل کل(ChlT) و افزایش میزان کارتنوئیدها در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد بود. بطوری که میزان Chla با اعمال تیمار سیر کاهشی داشته و کمترین میزان Chla در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید و بیشترین در گیاه شاهد مشاهده شد (جدول۱). تغییرات میزان Chlb نشانگر کمترین مقدار آن در غلظت ۵۰۰ میکرومولار و کاهش معنادار نسبت به سایر غلظت‌ها می‌باشد ($p< ۰/۰۵$). تفاوت چشمگیری در میزان Chlb در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تحت تیمار (غلظت ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر) مشاهده نشد. میزان کل کلروفیل (ChlT) نیز با اعمال تیمار سیر کاهشی داشته و کمترین میزان در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و بیشترین در گیاهچه شاهد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شده است (جدول۱).

طبق جدول ۱ میزان کارتنوئیدها با اعمال تیمار کادمیوم نیز دستخوش تغییر شد. با افزایش غلظت تیمار کادمیوم، افزایش معنادار میزان کارتنوئیدها مشاهده شد، که بیشترین میزان را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و کمترین در تیمار غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر و شاهد بود ($p<0/05$). بطور کلی میزان کل رنگیزه‌ها در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر نسبت به سطوح شاهد و ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر تفاوت داشته در حالی که در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر و شاهد، تفاوت معناداری در میزان کل رنگیزه‌ها مشاهده نشد ($p< ۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از بررسی میزان تراکم روزنه اپیدرم رویی و زیرین گیاه تحت تیمار و شاهد نشان‌دهنده‌ی افزایش معنادار تراکم روزنه‌ها در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر می‌باشد، در حالی که در سطوح شاهد، ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر، تفاوت معناداری در میزان تراکم روزنه در هر دو سمت اپیدرم مشاهده نشد ($p< ۰/۰۵$) (شکل۱ و جدول ۱).



شکل۱- سلول‌های اپیدرم زیرین (a,b,c,d) و اپیدرم روئی (e,f,g,h) برگ گیاه نیشکر تحت تیمار کادمیوم. a,e شاهد-b,f غلظت ۱۰۰میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید، c,g غلظت ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید ، d,h غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید. سلول روزنه:s.

جدول۱- بررسی اثر غلظت¬های مختلف کادمیوم کلرید بر ویژگی‌های مورفومتری و میزان رنگیزه‌های گیاه نیشکر واریته cp48-103.

پارامتر	شاهد	۱۰۰µM CdCl2	۲۵۰µMCdCl2	۵۰۰µM CdCl2
وزن تر گیاهچه (g)	۱/۲۲۳±۰/۱۳۶^{a}	۱/۱۹۶±۰/۰۷۰^{a}	۱/۰۸۳±۰/۰۸۶^{ab}	۰/۹۵۶±۰/۰۱۵^{b}
وزن تر برگ (g)	۱/۰۱۶±۰/۰۵۷^{a}	۰/۹۶۳±۰/۱۵۱^{ab}	۰/۸۱۳±۰/۰۴۶^{b}	۰/۶۰۶±۰/۰۲۵^{c}
وزن تر ریشه (g)	۰/۱۵±۰/۰۴^{a}	۰/۳۵±۰/۱۴۲^{b}	۰/۲۷۶±۰/۱۶۶^{c}	۰/۲۱۶±۰/۰۱۵^{d}
طول برگ سبز (cm)	۲۸/۷±۲/۳۳۸^{a}	۲۵/۴۶۶±۳/۵۵۰^{a}	۱۶/۸۶۶±۴/۶۳^{b}	۱۴/۱۶۶±۳/۶۹^{b}
عرض برگ سبز (cm)	۰/۴۳۳±۰/۰۵۷^{a}	۰/۴±۰/۱^{a}	۰/۳۶۶±۰/۱۱۵^{b}	۰/۳۳۳±۰/۰۱۵^{b}
میانگین طول ریشه (cm)	۱/۴۷۶±۰/۰۲۵^{a}	۱/۲۱۶±۰/۰۷۶^{b}	۱/۰۴۸±۰/۰۴۱^{c}	۰/۷۱۳±۰/۱۱۸^{d}
ضخامت ریشه (mm)	۰/۷±۰/۱۷۳^{a}	۱/۸۳۳±۰/۲۸۸^{b}	۲±۰/۵^{b}	۲/۳۳۳±۰/۲۸۸^{b}
شاخص متوسط برگ سبز	۰/۹۲±۰/۰۸^{a}	۰/۶۹۳±۰/۰۳۰۵^{b}	۰/۶±۰/۰۶^{c}	۰/۵۳±۰/۰۱^{c}
شاخص root/shoot	۲۱/۸±۵/۳۳۹^{a}	۲۱/۰۹±۴/۱۷۱^{a}	۱۶/۰۲۳±۴/۰۰^{b}	۲۰/۴۸±۷/۳۷^{a}
شاخص مقاومت ریشه	۱±۰^{a}	۰/۸۹۶±۰/۰۵۶^{b}	۰/۷۷۳±۰/۰۲۸^{c}	۰/۵۲۶±۰/۰۸۰^{d}
تراکم روزنه اپیدرم رویی	۲۲/۶۶۶±۱/۵۲^{a}	۲۵/۳۳۳±۵/۵۰^{a}	۳۱±۲^{a}	۴۳±۶/۵۵۷^{b}
تراکم روزنه اپیدرم زیرین	۳۶±۶/۰۸۲^{a}	۳۶±۳/۶۰^{a}	۳۹±۶/۰۸۲^{a}	۶۲±۹/۶۴۳^{b}
میزان Chla (mg/g F.W)	۰/۳۵۴±۰/۲۵۱^{a}	۰/۱۹۰±۰/۹۶^{b}	۰/۱۳۴±۰/۵۳۹^{c}	۰/۰۱۹±۰/۰۱۱۴^{d}
میزان Chlb (mg/g F.W)	۰/۱۱۱۲±۰/۰۰۸۶^{a}	۰/۱۱۱۷±۰/۱۲۵^{a}	۰/۱۰۸ ±/۰۰۱۵^{a}	۰/۱۸±۰/۰۱۶^{b}
میزان ChlT (mg/g F.W)	۰/۴۵۸±۰/۲۶۱^{a}	۰/۲۷۹±۰/۱۴۸^{b}	۰/۲۷۱±۰/۰۸۷^{b}	۰/۰۳۸±۰/۰۲۷۹^{c}
کارتنوئیدها (mg/g F.W)	۰/۲۸۸±۰/۰۹۶^{a}	۰/۴۲۳±۰/۳۴۷^{a}	۰/۷۱۵±۰/۴۱۹^{c}	۱/۰۰۹±۰/۳۶۳^{d}

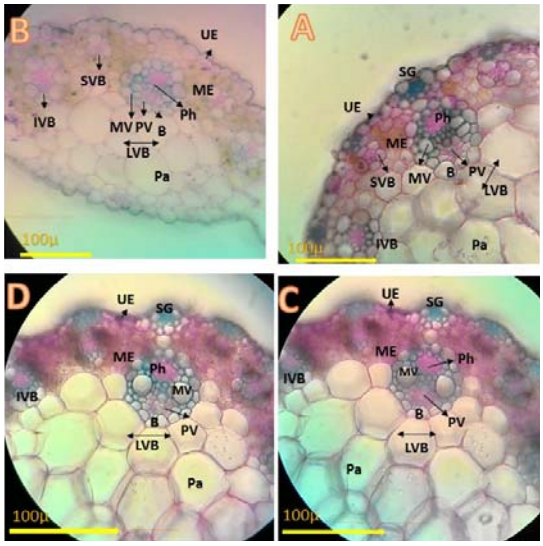
ویژگی‌های تشریحی

تشریح برگ: بررسی و آنالیز تصاویر عکس‌برداری شده از برش عرضی برگ گیاه نیشکر حاکی از تغییرات تشریحی قابل تشخیصی در ابعاد عناصر آوندی، سلول‌های پارانشیمی، کلاهک فیبری و ضخامت برگ گیاهچه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

شاهد و تحت تیمار می‌باشد. با مقایسه ابعاد دهانه‌ی متازایلم دستجات آوندی در برگ، نتیجه‌گیری شد که افزایش غلظت کادمیوم منجر به افزایش معنادار مساحت، محیط و شعاع دهانه‌ی متازایلم در برگ شده‌است، به طوری‌که بیشترین میزان این سه پارامتر در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و کمترین در سطح شاهد مشاهده گردید. همچنین با اعمال تیمار محیط و شعاع دهانه‌ی متازایلم نسبت به مساحت آن سریع‌تر دستخوش تغییر شد. در سطوح تیمار شاهد، ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر تفاوت معناداری از لحاظ مساحت دهانه‌ی متازایلم مشاهده نگردید، در حالی‌که محیط و شعاع دهانه متازایلم همزمان با اعمال تیمار افزایش یافت ($p< ۰/۰۵$) (جدول۲ و شکل ۲). مقایسه‌ی بافت فلوئم نشان‌دهنده‌ی کاهش معنادار ابعاد حجمی آن در گیاه تحت تیمار نسبت به گروه‌های شاهد و تیمار ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر می‌باشد. بیشترین میزان مساحت، محیط و طول بافت فلوئم در سطوح شاهد و ۱۰۰ میکرومولار و کمترین در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار دیده‌شد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۲و شکل۲). غلاف آوندی در برگ با اعمال تیمار کادمیوم دستخوش تغییراتی شد. بطوری‌که با اعمال تیمار دستجات آوندی بالغ‌تر و بزرگ‌تر شدند. طبق جدول۲ و شکل ۲، سلول‌های غلاف آوندی با اعمال تیمار کادمیوم از لحاظ ابعادی سیر کاهشی داشته، به طوری‌که کمترین میزان مساحت، محیط و شعاع سلول غلاف آوندی در سطح ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و بیشترین آن در سطح شاهد مشاهده شد ($p< ۰/۰۵$). مقایسه کلاهک فیبری بالای غلاف آوندی در رگبرگ اصلی، تغییرات کمی ناشی از تیمار را بروز داد. با اعمال تیمار کادمیوم کاهش معنادار ابعاد حجمی کلاهک فیبری مشاهده شد. کمترین میزان مساحت، محیط و طول کلاهک فیبری را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر نسبت به سایر سطوح دیده شد (جدول۲ و شکل۲). مقایسه سطوح مختلف سلول پارانشیمی در گیاه شاهد و تحت تیمار، کاهش معناداری را نشان می‌دهد. با افزایش میزان کادمیوم میزان مساحت، محیط و شعاع سلول پارانشیمی سیر کاهشی داشته و کمترین میزان را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و بیشترین در نمونه شاهد دیده شد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۲).



شکل۲-بررسی تغییرات تشریحی برش عرضی برگ گیاه نیشکر تحت تیمار کادمیوم، (A-شاهد)، (B-۱۰۰میکرومولار $CdCl_2$)، (C-۲۵۰میکرومولار $CdCl_2$)،(D-۵۰۰میکرومولار $CdCl_2$) B غلاف آوندی، SG کلاهک فیبری، Ph فلوئم، MV متازایلم، PV پروتوزایلم،Pa پارانشیم، ME سلول مزوفیل، UE اپیدرم فوقانی، LVB غلاف آوندی بزرگ، IVB غلاف آوندی متوسط، SVB غلاف آوندی کوچک.

طبق بررسی صورت گرفته، ارتباط مستقیم و قابل تشخیصی بین اعمال تیمار کادمیوم و اندازه سلول‌های بولی فرم (BC) دیده نشد، اما تعداد سلول‌های بولی‌فرم در برگ‌های تحت تیمار کادمیوم، افزایش معناداری پیدا کرد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۲). ضخامت برگ گیاه تحت تنش فلز کادمیوم نسبت به گیاهچه شاهد افزایش چشمگیری داشته، بطوری‌که در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر، بیشترین میزان ضخیم شدگی برگی دیده شد (جدول ۲).

تشریح ریشه: با بررسی تصاویر عکس‌برداری شده از برش عرضی ریشه تفاوت کمّی و قابل تشخیصی از لحاظ

www.SID.ir

Archive of SID

تشریحی مشاهده شد. بطورکلی ابعاد اغلب سلول‌های ریشه مثل آوندهای چوب (متازایلم و پروتوزایلم)، سلول آندودرم، سلول اگزودرم، سلول آبکشی، سلول کورتکس با اعمال تیمار کادمیوم سیر افزایشی داشت. با بالا رفتن غلظت کادمیوم آرایش آوندی در ریشه دستخوش تغییر شد. بطوری‌که تعداد بازوهای چوبی با اعمال تیمار کادمیوم سیر افزایشی داشت. بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع دهانه متازایلم در غلظت۱۰۰ میکرومولار بر لیتر و بیشترین میزان مساحت، محیط وشعاع پروتوزایلم در غلظت ۵۰۰ مشاهده شد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۳ و شکل ۳).

جدول ۲- بررسی اثر غلظت های مختلف تیمار کادمیوم کلرید بر ویژگی¬های تشریحی برگ گیاه نیشکر واریته cp48-103.

پارامتر	شاهد	۱۰۰µM CdCl2	۲۵۰µM CdCl2	۵۰۰µM CdCl2
سطح دهانه متازایلم (μm^2)	۱۷۸/۴۵±۷/۱۱^a	۲۲۱/۸۵±۳/۰۶۸^a	۲۴۱/۶۴±۰/۳۴^a	۲۴۸/۵±۱/۳^b
محیط دهانه متازایلم (μm)	۴۷/۱۷۳±۵/۸۸^a	۵۲/۷۷۷±۲/۰۳^b	۵۵/۱۰۱±۰/۲۲^b	۵۵/۸۷۷±۰/۸۷۵^b
شعاع دهانه متازایلم (μm)	۷/۵۰۷±۰/۹۳۷^a	۸/۳۹۹±۰/۳۲۴^b	۸/۷۶۹±۰/۰۳۵^b	۸/۸۹۳±۰/۱۳۹^b
سطح بافت فلوئم (μm^2)	۴۷۵/۰۳۳±۰/۸۴^a	۳۲۳/۱۸۸±۰/۰۴۱^b	۲۲۶/۰۹±۰/۰۲^c	۱۹۳/۲±۰/۲۲^d
محیط بافت فلوئم (μm)	۹۰/۳۲۱±۰/۷۰۷^a	۹۱/۷۴۴±۰/۷۰۷۱^a	۵۶/۹۹۹±۰/۷۰^b	۵۹/۰۷۲±۲/۱۲^b
طول بافت فلوئم (μ)	۳۱/۵۹۷±۰/۰۹۸^a	۳۰/۵۲۶±۰/۷۰۷^a	۲۰/۹۴۵±۰/۷۰۷^b	۱۹/۶۷۱±۰/۴۵۹^b
مساحت کلاهک فیبری (μm^2)	۲۷۶/۶۴±۰/۵۶^a	۲۶۱/۳۸۲±۰/۲۸^a	۲۳۹/۲±۰/۵۶^b	۱۴۳/۴۹۱±۱/۱۲^c
محیط کلاهک فیبری (μm)	۹۶/۴۹۵±۰/۷۰۷^a	۸۳/۰۶۶±۰/۷۰^b	۶۵/۶۵۳±۲/۱۲۱^c	۵۵/۹۶۶±۱/۴۱۴^d
طول کلاهک فیبری (μm)	۳۳/۹۹۳±۰/۷۰^a	۳۱/۲۳۰±۰/۷۰۷^a	۲۶/۷۳۸±۰/۷۰۷^b	۱۵/۷±۰/۷۰^c
سطح سلول پارانشیمی (μm^2)	۴۰۳۹/۸۹±۰/۱۲^a	۱۸۰۸/۸۲±/۰۵^b	۱۲۷۰/۶۷۱±۰/۵^c	۹۷۹/۷±۰/۸۲^d
محیط سلول پارانشیمی (μm)	۱۷۲/۸۸۵±۴۲/۵۰^a	۱۵۳/۱۱۶±۱/۶۷۱^b	۱۳۵/۸۶۷±۱۳/۲۶^c	۱۰۰/۴۵۲±۳۱/۵۱^d
شعاع سلول پارانشیمی (μm)	۲۸/۶۳۶±۶/۷۶^a	۲۴/۳۶۹±۰/۲۶۶^b	۲۱/۶۲۳±۲/۱۱^c	۱۵/۹۸۷±۵/۰۱۵^d
اندازه سلول بولی فرم (μm)	۶۱/۶۷۸±۱۰/۳۴^a	۱۰۸/۰۴۲±۲۰/۰۷^b	۶۳/۱۲۱±۶/۶۷^a	۱۰۵/۶۷±۲۵/۷۶^b
تعداد سلول بولی فرم	۳/۳۳۳±۱^a	۱/۶۶۶±۰/۵۷۷^b	۴/۳۳۳±۰/۵۷۷^c	۲/۶۶±۰/۵۷^{ac}
ضخامت برگ(μm)	۲۱۹/۳۷۸±۰/۵۷^a	۴۶۴/۳۳۰±۷/۵^b	۵۳۲/۶۷۶±۲/۵^b	۱۹۲۱/۰۶۶±۲۵۳۴/۴^c
مساحت سلول غلاف آوندی (μm^2)	۱۸۹/۹±۵/۹۷^a	۱۷۰/۱۵۶±۷/۰۴^b	۹۷/۵±۹/۱۴^c	۴۵/۷±۱/۱۹^d
محیط سلول غلاف آوندی (μm)	۴۶/۷۱۹±۴/۳۱۶^a	۴۲/۸۵۸±۶/۳۰^a	۳۷/۰۵۳±۸/۴۱^a	۲۶/۳۶۴±۱/۸۶^b
شعاع سلول غلاف آوندی (μm)	۷/۴۳۵±۰/۶۸۶^a	۶/۸۲۵±۱/۰۰۲^a	۵/۸۹۷±۱/۳۳۹^a	۴/۱۹۶±۰/۲۹۶^b

مقایسه ابعاد آوند آبکشی حاکی از افزایش معنادار مساحت، محیط و شعاع سلول آبکشی در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد می‌باشد که بیشترین مساحت و محیط در غلظت ۵۰۰ میکرومولار دیده شد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۳ و شکل ۳). ضخامت کورتکس ریشه با اعمال تیمار روند نامنظمی داشت که بیشترین میزان ضخامت کورتکس در غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد. البته تعداد لایه کورتکس تغییر چشمگیر نداشت و تغییر ضخامت کورتکس به علت افزایش ابعاد سلول‌های کورتکس بود (شکل۳). محدوده مغز با افزایش غلظت کادمیوم توسعه بیشتری پیدا کرد. مقایسه کمّی سلول مغز ریشه نشان دهنده سیر افزایشی ابعاد در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد است، به‌طوری‌که بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع سلول مغز در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۳).

ابعاد سلول‌های آندودرم، ضخامت سلول اگزودرم نیز از این قاعده مستثنی نبوده و با ایجاد شرایط تنشی افزایش

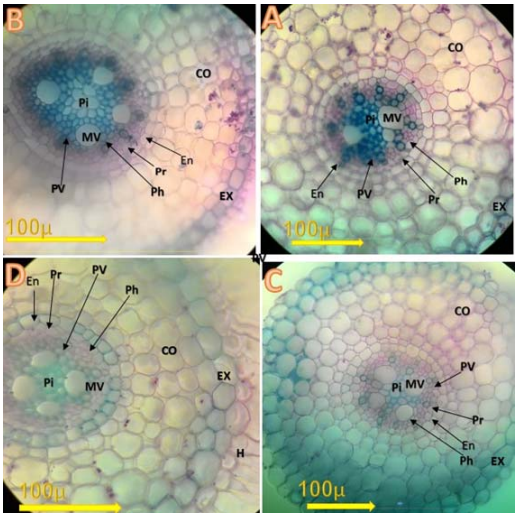
www.SID.ir

Archive of SID

پیدا کردند. بیشترین میزان این ابعاد را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر و کمترین در گیاهچه شاهد دیده شد. البته تفاوت معناداری بین سطوح ۱۰۰ و۲۵۰ میکرومولار دیده نشد ($p< ۰/۰۵$) (جدول۳).

بحث

این پژوهش تاثیر فلز سنگین کادمیوم را بر روی ویژگی‌های تشریحی و ریخت‌شناسی گیاهچه‌های نیشکر حاصل از کشت بافت، مورد بررسی قرار داده است. یافته‌ها بیانگر آن است که فلز سنگین کادمیوم صفات تشریحی و ریخت‌شناسی نیشکر را به لحاظ کمّی و کیفی دستخوش تغییر قرار داد. مطالعه مقایسه تشریحی و ریخت‌شناسی در بخش‌های مختلف گیاه نیشکر نشان داد که ضخامت و اندازه‌های تشریحی ریشه‌ها وابسته به غلظت کادمیوم بیشترین تغییرات را متحمل شدند.



شکل۳- برش عرضی از ریشه گیاهچه های نیشکر تحت تیمار غلظت¬های مختلف کادمیوم، (A-شاهد)، (B-۱۰۰میکرومولار $CdCl_2$)، (C-۲۵۰میکرومولار $CdCl_2$)، (D-۵۰۰میکرومولار $CdCl_2$) CO کورتکس، MV متازایلم، PV پروتوزایلم، En آندودرم، Ex اگزودرم، Pi مغز، Ph فلوئم، Pr دایره محیطیه، H تارکشنده.

جدول ۳- بررسی اثر غلظت های مختلف کادمیوم کلرید بر ویژگی های تشریحی ریشه گیاه نیشکر واریته cp48-103.

	شاهد	۱۰۰µM CdCl2	۲۵۰µM CdCl2	۵۰۰µM CdCl2
مساحت دهانه متازایلم (μm^2)	۲۲۹/۵۳±۱۱/۹۲^a	۱۱۸۱/۷±۵۵۵/۱۵^b	۸۷۴/۳±۸۲/۳۷^c	۱۷۰۱/۶±۵۱/۳۳^c
محیط دهانه متازایلم(μm)	۴۱/۹۱۲±۵/۷۳^a	۱۱۹/۵۶۲±۱۵/۴۳^b	۱۰۸/۵۶۹±۲۵/۵۲^b	۱۱۱/۹۹۰±۱۵/۹۷^b
شعاع دهانه متازایلم(μm)	۷/۷۹۱±۰/۹۱۲^a	۱۹/۰۲۸±۲/۴۵^b	۱۷/۲۷۹±۴/۰۶^b	۱۷/۸۲۳±۲/۵۴^b
عرض سلول آندودرم(μm)	۶/۱۹۲±۱/۸۶^a	۱۳/۶۱۱±۳/۲۶^b	۱۴/۱۴۴±۳/۸۸^b	۱۷/۱۱۱۴±۲/۳۱^c
مساحت سلول کورتکس (μm^2)	۲۳۶/۳۸۰±۳/۴۳^a	۴۹۷/۶±۷۷/۵۹^b	۵۸۴/۵±۲۶/۴۹^b	۹۳۱/۳±۱۴۲/۸۲^c
محیط سلول کورتکس(μm)	۳۶/۱۸۲±۰/۰۸۰^a	۱۱۴/۴۷۸±۲۴/۳^b	۱۱۹/۷۵۲±۷/۷۵^b	۱۶۷/۰۰۵±۳۰/۰۷^c
شعاع سلول کورتکس(μm)	۶/۸۷۹±۰/۰۱۴^a	۱۸/۲۱±۳/۸۶^b	۱۹/۰۵۹±۱/۲۳^b	۲۶/۵۲۹±۴/۷۸^c
مساحت سلول مغز (μm^2)	۵۹/۸۴۴±۲/۰۳	۸۹/۷۸±۳/۷^b	۲۰۱/۲۸±۸/۶^c	۲۲۱/۵±۱/۶^c
محیط سلول مغز (μm)	۱۹/۶۶۰±۲/۵۷^a	۳۵/۴۳۲±۳/۷۲^b	۵۱/۷۰۴±۵/۶۶^c	۵۳/۹۳۴±۱/۰۳^c
شعاع سلول مغز (μm)	۴/۲۵۰±۰/۴۱^a	۵/۶۳۹±۰/۵۹^a	۸/۲۲۹±۰/۹۰^b	۸/۵۸۳±۰/۱۶^b
ضخامت کورتکس(μm)	۶۵/۵۷۱±۰/۷۰^a	۱۳۲/۴۹۸±۷/۰۷^b	۶۲/۶۶۳±۰/۷۰۷^a	۱۳۷/۴۸۶±۱/۴۱۴^c
ضخامت سلول اگزودرم(μm)	۶/۷۶۶±۱/۵۳^a	۲۸/۹۱۷±۱/۱۶^b	۲۸/۱۱۵±۲/۵۴^b	۴۱/۶۷۴±۶/۳۶^c
مساحت دهانه پروتوزایلم(μm^2)	۳۰/۸۲±۰/۵۵^a	۸۰/۳۳±۳/۳۸^b	۸۷/۶۴±۲/۳^b	۱۲۲/۸۳±۲/۴۴۲^c
محیط دهانه پروتوزایلم(μm)	۱۹/۶۶۲±۰/۹۷۷^a	۳۱/۶۵۱±۳/۳۵۹^b	۳۳/۱۲۰±۲/۵۰^b	۳۹/۱۵۹±۳/۸۳^c
شعاع دهانه پروتوزایلم(μm)	۳/۱۲۹±۰/۱۵۵^a	۵/۰۳۷±۰/۵۳۴^b	۵/۲۷۱±۰/۳۹۸^b	۶/۲۳۲±۰/۶۰۹^c
مساحت سلول آبکش(μm^2)	۱۴/۵±۰/۸۸^a	۸۷/۶±۱/۸۶^b	۸۶/۳±۳/۰۵^b	۱۲۲/۱۶±۱/۲۶
محیط سلول آبکش(μm)	۱۳/۳۵۱±۲/۴۴^a	۳۳/۱۴۵±۱/۹۲	۳۲/۸۲۹±۳/۱۶۷^b	۳۹/۱۶۷±۱/۱۱^c
شعاع سلول آبکش(μm)	۲/۱۲۴±۰/۳۸۸^a	۵/۲۷۵±۰/۳۰۷^b	۵/۲۲۴±۰/۵۰۴^b	۶/۲۳۳±۰/۱۷۸^c

مطالعه و تحلیل میزان تغییرات تشریحی گیاهچه‌های نیشکر بصورت کمّی و جامع برای بررسی دقیق تاثیر فلزسنگین کادمیوم و همچنین بررسی نقش گیاه نیشکر در گیاه پالایی کادمیوم ضروری بود. در ارتباط با اثر کادمیوم

www.SID.ir

Archive of SID

بر وزن‌تر برگ و گیاهچه، گیاهان تحت تیمار کادمیوم از وزن کمتری نسبت به شاهد برخوردار بودند. در واقع اعمال تیمار کادمیوم سبب کاهش وزن‌تر برگ و گیاهچه نیشکر شده‌است که با نتایج Guoia و همکاران در سال ۲۰۰۱ بر روی گیاه لوبیا همسو می‌باشد (۱۸). کادمیوم به واسطه اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم ازت، سبب کاهش رشد و در نهایت کاهش زی‌توده در گیاهان می‌شود. همچنین این فلز سنگین، جذب آب و مواد غذایی را در گیاه مختل کرده و رشد گیاه را کاهش می‌دهد (۱۸).

با بررسی اثر کادمیوم بر مورفومتری برگ گیاه نیشکر مشخص شد که سطوح برگی نیز تحت تاثیر این فلز کاهش یافته‌است، Vassilev و Yordanov در سال ۱۹۹۷ بیان کردند که تاثیرات منفی کادمیوم بر سطوح برگ و جذب آب ناشی از کاهش فشار تورگور است، به دنبال آن کاهش قابلیت ارتجاعی دیواره‌ی سلول، کاهش فضای بین سلولی و کوچک شدن سلول‌های گیاهی تحت تنش فلز کادمیوم اتفاق می‌افتد (۳۵). کلروز، نکروز برگی و کاهش رشد از مهم‌ترین علائم سمیت فلز کادمیوم در گیاه است. فلزات سنگین با کاهش شدید فتوسنتز، انتقال فتوسنتزی، تقسیم سلولی و رشد گیاه را به‌شدت کاهش می‌دهند (۱۴و ۳۷).

کاهش میزان کلروفیل در گیاهان نیشکر تحت تیمار کادمیوم مشاهده شد که با نتایج سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۵ بر گیاه کلزا همسو می‌باشد (۳۰). کاهش میزان کلروفیل تحت تنش کادمیوم می‌تواند به‌علت مهار بیوسنتز کلروفیل، احتمالا به واسطه مهار سنتز آمینولوونیک اسید و تشکیل پروتوکلروفیل رداکتاز باشد (۲۳). Geebelen و همکاران در سال ۲۰۰۲ با بررسی اثر مشترک سرب-EDTA بر گیاه *Phaseolus vulgais* مشخص کردند که سرب بر سنتز کلروفیل a از طریق ممانعت γ-آمینولوونیک اسیددهیدراتاز اثرگذار است و در نهایت منجر به کاهش محتوای کلروفیل و ممانعت از فتوسنتز در گیاه می‌شود (۱۷). کادمیوم با اختلال در جذب عناصر غذایی مهم چون Fe و Mg سبب اختلال در سنتز کلروفیل می‌گردد. ممانعت از عمل احیای آهن III در ریشه، منجر به کمبود آهن II و در نتیجه فتوسنتز می‌شود. به طور کلی کادمیوم در جذب، انتقال و استفاده از عناصر کلسیم، منیزیم، فسفر و آب توسط گیاه اختلال ایجاد می‌کند. کادمیوم جذب نیترات و انتقال آن از ریشه‌ها به اندام را از طریق ممانعت از فعالیت نیترات رداکتاز کاهش می‌دهد (۷). Baryla و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که اثر کادمیوم بر برگ‌های کلزا سبب کاهش میزان کلروفیل برگ شده است که با نتایج تحقیق حاضر همسو بوده‌است (۶). همچنین فلزات سنگین مثل کادمیوم با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین های کمپلکس LHCII در سطح رونویسی سبب فتواکسیداسیون کلروفیل تازه تشکیل شده، می‌شوند (۳۳). بررسی‌ها نشان داد که این فلز بر روی تقسیم و رشد سلول‌ها، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد و باعث کاهش تعداد گره‌ها و فاصله آن‌ها و به دنبال آن، کاهش ارتفاع گیاه می‌شود (۱۵). چون ریشه گیاهان اولین محل برخورد فلزات سنگین خاک با گیاه است، کاهش طول ریشه در مقایسه با بخش‌های هوایی گیاه قابل توجه است (۱۹). کاهش طول ریشه گندم تحت تنش کادمیوم در مطالعات Gajewska و همکاران در سال ۲۰۱۰ دیده‌شد (۱۶). کاهش طول ریشه یک تغییر سازشی، به‌هدف کاهش سطح جذب یون‌های سمی می‌باشد. مسیر انتقال کادمیوم در گیاه آپوپلاستی است و همچنین به علت تشابه اندازه شعاع یونی و بار الکتریکی با کلسیم از طریق مسیرهای انتقال کلسیمی نیز می‌تواند منتقل شود و از ریشه به برگ حرکت کند (۸).

Maksimovic و همکاران در سال ۲۰۰۷ با بررسی اثر کادمیوم و نیکل بر ویژگی‌های تشریحی ریشه ذرت مشخص کردند که اثرات کادمیوم بر ساختار تشریحی ریشه به مراتب نسبت به نیکل بیشتر است (۲۰). بطوری‌که

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهانی که در معرض کادمیوم قرار گرفته‌اند ضخامت کورتکس و اندازه سلول‌های پارانشیم نسبت به گیاهان تحت تیمار نیکل بیشتر بوده‌است. افزایش ابعاد سلول‌های کورتکس می‌تواند راهی جهت افزایش مقاومت به جریان‌های شعاعی آب و سایر مواد معدنی و غذایی باشد؛ که در نهایت منجر به کاهش رشد ریشه و اندام هوایی می‌شود. نتایج Maksimovic و همکاران، همسو با نتایج تحقیق حاضر بوده است (۲۸). کادمیوم وقتی وارد ریشه شود سبب القای تشکیل سدهای آپوپلاستی مثل سوبرینی‌شدن آندودرم و سپس لیگنی‌شدن اگزودرم می‌شود. مطالعات کمّی بر روی سلول‌های آندودرمی با نتایج Cheng و همکاران در سال ۲۰۱۲ همسو بوده‌است (۱۲). تشکیل نوار کاسپاری و سوبرینی‌شدن دیواره‌های سلول آندودرمی به عنوان سد آپوپلاستی در برابر عبور یون‌های فلزی مثل کادمیوم عمل می‌کند. سلول‌های اگزودرمی معمولا در برابر تنش‌های محیطی نسبت به سلول‌های آندودرمی از حساسیت کمتری برخوردار هستند (۱۲). Vitoria و همکاران در سال ۴-۲۰۰۳ گزارش کردند که کادمیوم سبب تغییر در تمایز ریشه می‌شود (۳۶). در واقع کادمیوم سرعت تمایز ریشه را بالا می‌برد. Vaculik و همکاران در سال ۲۰۱۲ بیان کردند که پدیده‌ی سوبرینی‌شدن سلول‌های آندودرمی در ریشه گیاه ذرت تحت تنش کادمیوم و سیلسیوم نسبت به شاهد، در راس ریشه سریع‌تر صورت گرفته است، در واقع این فلزات سبب تسریع تشکیل نوار کاسپاری و تمایز در ریشه شده‌اند که با نتایج این تحقیق همسو بوده است (۳۴). افزایش سرعت تمایز همچنین می‌تواند دلیلی جهت افزایش ابعاد سلول‌های استل و تعداد بازوهای چوب، افزایش تمایز سلول‌های آوندی به موازات افزایش غلظت کادمیوم در گیاه نیشکر باشد (۳۴). مطالعه کمّی تاثیر فلز کادمیوم بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و تشریحی برگ گیاه نیشکر نشان داده شد که ضخامت برگ سیر افزایشی داشته‌است. افزایش ضخامت برگی می‌تواند ناشی از افزایش ابعاد سلول‌های برگی و سرعت تمایز در گیاه تحت تیمار باشد. در واقع کادمیوم با القای تمایز در سلول‌های برگی به ایجاد مقاومت در برگ گیاه نسبت به تنش کمک می‌کند. البته دامنه میزان تغییرات تشریحی در برگ تحت تیمار به مراتب نسبت به ریشه کمتر بوده‌است، علت آن می‌تواند وجود سدهای آپوپلاستی و دسترسی کمتر کادمیوم به سلول‌های برگی باشد. نتایج تحقیق حاضر در ارتباط با تغییرات تشریحی برگ ناشی از فلز کادمیوم با نتایج Maurati و همکاران در سال ۲۰۰۷ بر روی گیاه جو مغایرت داشته است (۲۱). در حالی‌که فلز روی بر ویژگی تشریحی برگ گیاه و اثرات سو داشته و سبب چروکی پلاستید و سلول‌های اپیدرمی، کاهش فضای بین سلولی و بهم ریختگی غلاف آوندی شده‌است (۳۲).

در این تحقیق مکانیسم عمل دقیق کادمیوم بر تغییرات تشریحی و ریختی گیاه نیشکر مشخص نمی‌باشد که به مطالعات بیشتر در زمینه سلولی و مولکولی نیازمند است. از لحاظ سازگاری گیاه نیشکر به کادمیوم، حد آستانه تحمل گیاه کاملا مشخص نشده‌است که نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد تا بتوان به این سوال پاسخ داد. علاوه بر این پژوهش حاضر در شرایط *in vitro* صورت گرفته که لازم به مطالعه بیشتر در شرایط *in vivo* نیز می‌باشد.

نتیجه گیری

مهم‌ترین شاخصه ظاهری از لحاظ تشریحی در گیاه تحت تیمار کادمیوم بروز سریع‌تر تمایز بویژه در ریشه‌ها بوده است که به عنوان افزایش مقاومت گیاه به این تنش بکار رفته‌است. کادمیوم به واسطه کاهش فشار تورژسانس و اثر بر رشد و تقسیم سلولی، تنظیم رشد و نمو و رشد کلی سلول‌ها سبب تغییرات تشریحی و ریخت‌شناسی در گیاهان می‌شود. افزایش سرعت تمایز، کاهش وزن‌تر، کاهش ارتفاع و طول ریشه گیاه، کلروز و نکروز برگی همگی می‌تواند به علت پاسخ دفاعی گیاه به این تنش باشد تا بقای گیاه بهتر حفظ شود. کادمیوم با ورود به ریشه گیاه

www.SID.ir

Archive of SID

سبب ارسال سیگنال‌هایی جهت القای سدهای آپوپلاستی می‌شود. ایجاد سدهای آپوپلاستی مثل چوب پنبه‌ای‌شدن سلول‌های آندودرمی و اگزودرمی به عنوان مانعی جهت انتقال این فلز سنگین به سلول‌های استلی می‌باشد. علاوه بر این افزایش ضخامت کورتکس ناشی از افزایش ابعاد احتمالا به‌علت افزایش ذخیره کادمیوم در این سلول‌ها و تشکیل پیوند کادمیوم با دیواره‌های سلولی بوده تا مثل سدی مانع عبور آن به بخش‌های داخلی‌تر شود. کادمیوم به علت وجود سدهای آپوپلاستی قادر به ورود به بخش‌های درونی‌تر استل نمی‌باشد ولی در هنگام تشکیل ریشه‌های فرعی می‌تواند به سرعت وارد سلول‌های استلی شده سپس از طریق آوندهای چوبی به بخش‌های هوایی منتقل شود و تغییرات ساختاری و تشریحی در برگ بوجود آورد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی، دانشگاه شهید چمران اهواز و مرکز تحقیقات کشت و صنعت کارون شهرستان شوشتر جهت همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

۱. دژبان. ع.، شیروانی. ا.، عطارد. پ.، دلشاد. د. و م. متینی زاده. ۱۳۹۴. اثر تنش کادمیوم بر فلورسانس کلروفیل، محتوی رنگدانه‌های کلروفیلی و پرولین برگ نهال‌های داغداغان (*Celtis caucasica* L.) و اقاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.) . مجله زیست شناسی ایران، ۲۸(۴): ۷۴۶-۷۵۸.

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

3. Adriano DC. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Springer. 263-314.

4. Ashraf MA, Maah MJ, Yuosoff I. 2011.Heavy metals accumulation in plants growing in extending catchment. Int. J. Environ. Sci. Techno. 8(2):401-416.

5. Baryla A, Carrier P, Frank F, Coulomb C, Sahut C, Havaux M. 2001. Leaf chlorosis oilseed rape plants *(Brassica napus)* grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for phothosynthesis and growth. Planta. 212:696-709.

6. Baycu G, Doganay T, Hakan O, Sureyya G. 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. Environ. Pollut. 143:545-554.

7. Benuvides, Susan M.G, Maria L.T. 2005. Cadmium toxicity in plants. Braz. J. Plant. Physiol. 17(1).

8. Bhattacharyya MH, Wilson AK, Rajan SS, Jonah M. 1999. Role of metallothionein in uptake and distrubtion of environmental levels of cadmium in mice. Toxcol. Sci. 34–74.

9. Boussama N, Ouarity O, Suzuki A, Ghorbal MH. Cd-stress on nitrogen assimilation. 1999. J. plant. physiol. 155:310-317.

10. Cardeiro G, Amouyal O, Eliott F, Henry R. 2007. Sugarcane genome mapping and molecular breeding in plants. Sug. Tub. Crop. 3:175-203.

11. Celik A, Kartel A, Akdogan A, Kaska Y. 2004. Determining heavy metal pollution in Denzli (Turkey) by using *Robinio pseudo-acacia* L. Environ. Int. 31:105-112.

12. Cheng H, Chen DT, Tam NF, Chen GZ, Li SY, Ye ZH. 2012. Interactions among Fe2+, S2– and Zn2+tolerance, root anatomy, and radial oxygen loss in mangrove plants. Exp. Bot. 63: 2619–30.

13. Cope, J., Corney, D., Clark, J., Remagnino, P. and wilkin, P. 2012. Plant species identification using digital morphometrics: a review. Expert Systems with Applications. 39(8), pp. 7562-7573. ISSN (print) 0957-4174.

14. Dalla vecchia F, La Rocca N, Moro I. 2005. Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea Canadensis* exposed to cadmium. Plant Sci. 168(2):329-338.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Das P, Samantaray S, Rout G.R. 1997. Studies of cadmium toxicity in plants-review. Environ. Pollut. 98 (1) :20-36.

16. Gajewska E and Sklodewska M. 2010. Differential effect of equal copper, cadmium and nickel concentration on biochemical reactions in wheat seedling. Ecotoxicol. Environ. Saf. 73:996-1003.

17. Geebelen W, Vangronsveld J, Adriano D. C, Van Poucke L.C, Clijsters H. 2002. Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*. Physiol. Plant. 115:377-384.

18. Gouia H, Ghorbal M.H, Meyer C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. Plant. Physiol. 38:629-638.

19. Kabir M, Zafar Iqbal M, Shafiq M, Farooqi ZR. 2008. Reduction in germination and seedlikg growth of *Thespesia populnea* L.causes by lead and cadmium treatments. Pakistan. Bot. 40:2419-2426.

20. Maksimovic I, Kastori R, Krstic L, Lukovic J. 2007. Steady presence of cadmium and Nickel affects root anatomy, accumulation and distribution of essential ion in maize seedlings. Biol. plant. 51(3):589-592.

21. Maurati Sridhar BB, X.Han F, Diehli SV, Monts DL, Su Y. 2007. Effect on Zn and Cd accumulation on structural and physiological and characteristics of Barley plant. Braz. J. Plant Physiol. 19(1):15-22.

22. Meng, T. & Harrison, S. P. 2009. Plant morphometric traits and climate gradients in northern China: a meta-analysis using quadrat and flora data. Ann. Bot. 104(6), 1217–1229.

23. Prasad MNV. 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. Environ. Exp. Bot. 35(4):525-545.

24. Prasad MNV. 1995. Inhibition of maize leaf chlorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. Photosynthetica. 31:635-640.

25. Prasad S, Dwivedi R, Zeeshan M, Singh R. 2004. UV-B and cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp. Acta. Physiol. Plant. 26:423-430.

26. Salman H. 1999. The ethics of going green: the corporate social responsibility debate. Buss. Stra. Environ. 8.4:203-210.

27. Sanita DT, Gabbrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants- review. Environ. Exp. Bot. 41:105-130.

28. Seregin IV, Kozhevnikova AD. 2008. Roles of root and shoot tissues in transport and accumulation of cadmium, lead, nickel, strontium. Russ. J. Plant. Physiolo. 55(1):1-22.

29. Siedlecka A, Krupa Z. 1999. Cd/Zn intraction in higher plants-its consequences for photosynthetic apparatus. Photosynthetica. 36(3):321-331.

30. Soltani F, Gorbanli M.L, Manochehri kalantari Kh. 2005. Effect of cadmium on photosynthetic pigments, Malone dialdehid in *Brassica napus* L. Ir. Biol. J. 19(2): 25-29.

31. Souza JF, Dolder H, Cortelzaao A. 2005. Influence of Mn toxicity on photosynthesis in *Vigna umbellate* seedlings. Photosynthetica. 38:449-453.

32. Sridhar M, Diehl SR, Han FX, Monts DL, Su Y. 2004. Anatomical changes due to uptake Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). Environ. Exp. Bot. 54:131-141.

33. Tziveleka L, Kaldis A, Hegedus A, Kissimon J, Prombonal A, Horvath G, Arjyroidi – Akoyou, J. 1999. The effect of Cd on chlorophyll and light – Harvesting complex II biosynthesis in greening plants. Natur. Forsch. 54c: 740 – 745.

34. Vaculik M, Landberg T, Greger M, Luxova M, Stolarikova M, Lux A. 2012. Silicon modifies root anatomy and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. Ann. Bot. 110: 433–443.

35. Vassilev A, Yordanov I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants –review. Plant. Physiol. 23:114-133.

36. Vitória A. P, Rodriguez A. P. M, Cunha M, Lea P.J, Azevedo R.A. 2003. Structural changes in radish seedlings exposed to cadmium. Biol. Plant. 47: 561-568.

37. Yousefi Z, Kolahi M, Majd A and Jonoubi P. 2018. Effect of cadmium on morphometric traits, antioxidant enzyme activity and phytochelatin synthase gene expression (SoPCS) of *Saccharum officinarum* var. cp48-103 in vitro. Ecotoxicol. Environ. Saf. 157: 472-481.

www.SID.ir

Archive of SID

Cadmium Effect on Morphologic-Anatomic Characteristics and Pigmentation of Sugarcane (*Saccarum officinarum* L.) Var Cp48-103 In vitro Culture

Yousefi Z.[1], Kolahi M.[2], Majd A.[1] and Jonoubi P.[1]

[1] Plant Siences Dept., Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Chamram University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. of Iran

Abstract

Cadmium is one of the most toxic heavy metal that has harmful effects on ecosystems and the sustainability of imports. This metal enters into the plant through the soil causing a wide variety of changes at the macro to cellular level. Sugarcane plantlets were cultured from in vitro cultures for 14 days on a 16/8 hour light /dark cycle and at a temperature of 25 °C. Plants were cultured in the presence of cadmium at concentrations of 0, 100, 250 and 50 µM/L. After sampling, morphometric features and the amount of pigmentation was evaluated. After manually preparing root and leaf cuttings, they were dyed with carmine and methylene blue. The prepared slides were observed with a light microscope. Morphometric data showed that the average amount of green leaves, wet weight, root length and height of plant was reduced. Measurement of chlorophyll showed that with increasing cadmium concentration there was a decrease in chlorophyll a, b and total chlorophyll, while the amount of carotenoids increased significantly. Cadmium-treatment increased the size of xylem and the thickness of the bundle sheath cells in leaves as well as increased the level of vascular cells, endoderm, exoderm, exodermis layer, as well as the root cortex and pith cells. Cadmium by changing plant water relationship can affect photosynthesis, transpiration and respiration also impacting on morphological characteristics and the amount of pigment in the plant. The metal also induces premature differentiation of plant cells, especially the root. Cadmium can cause anatomical changes in the sugarcane.

Key words: Anatomical Structure, Cadmium, Morphometric, Pigment, Sugarcane.

www.SID.ir