

## اثر کادمیم بر برخی پارامترهای فیزیولوژی در *Eucalyptus occidentalis*

آناهیتا شریعت<sup>\*</sup>، محمد حسن عصاره و عباس قمری زارع<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۲/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۳/۴)

### چکیده

عناصر سنگین از جمله کادمیم که در نتیجه فعالیت‌های عمده شهری و صنعتی و کشاورزی تولید می‌شوند و باعث آلودگی منابع آب می‌شوند. از طرفی با توجه به نیاز روزافزون جنگل‌کاری در ایران، لازم است که تحقیقی جامع بر روی گونه‌های سریع‌الرشد و همیشه سبز اکالیپتوس و نقش این گیاهان در جذب فلزات سنگین از جمله کادمیم انجام شود. به این منظور پس از تهیه نهال‌های گونه *Eucalyptus occidentalis* در گلدان‌های حاوی سیلیس و آبیاری نهال‌ها با محلول غذایی حاوی غلظت‌های (۵، ۱۰ و ۱۵) میلی‌مولار کلرید کادمیم به مدت ۱۰ ماه آبیاری و در پایان این مدت نمونه‌های ریشه و برگ برداشت شده و مقدار عنصر کادمیم در اندام‌های ساقه، برگ و ریشه و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی از جمله قندهای محلول، پرولین، رنگیزه‌های گیاهی، پارامترهای رشد، صفات روزنه، نسبت وزن برگ، شاخص تنش تحمل شده و صفات جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. مطالعات نشان داد که غلظت کادمیم در تیمار ۱۵ میلی‌مولار به ترتیب در ریشه، برگ و ساقه ۵۸۵، ۱۴۲ و ۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک است. با افزایش غلظت تیمارهای کادمیم میزان پرولین افزایش و از مقدار رنگیزه‌های گیاهی کاسته شد. نتایج این تحقیق بیانگر این است که اکالیپتوس توان انباشته‌سازی عنصر آلاینده کادمیم را دارد بدون آن که اختلال جدی در رشد آن به وجود آید. بنابراین می‌توان از این گیاه جهت کاهش آلودگی‌های محیط زیست استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اکالیپتوس، پرولین، رنگیزه‌های گیاهی، قندهای محلول، جوانه‌زنی

۱. به ترتیب کارشناس ارشد و اعضای هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: [shariat@rifr-ac.ir](mailto:shariat@rifr-ac.ir)

## مقدمه

کادمیم یکی از عناصر سنگینی است که به علت سمیتی که برای انسان و حیوان دارد دارای اهمیت زیادی از دیدگاه محیط زیست است. سمیت و تجمع کادمیم در اندام‌ها از طریق خوردن غذای آلوده نقش مهمی در به مخاطره انداختن سلامتی انسان دارد (۳۶). این عنصر طیف وسیعی از مسمومیت که شامل تخدیر اعصاب، مسمومیت کبدی، مسمومیت کلیه، جنین ناقص الخلقه و آثار جهش‌زایی دارد. راه‌های پیدایش و ورود کادمیم به محیط از طریق ضایعات صنعتی ناشی از فرایندهای آبکاری، تولید پلاستیک، معدن‌کاری، تولید مواد رنگی، تولید آلیاژها و باتری‌هاست (۲۳). همچنین ائانه منازل، اتومبیل‌ها، کامیون‌ها، ابزار آلات کشاورزی و قطعات هواپیما، ابزارهای صنعتی و انواع اتصال دهنده‌ها از جمله انواع مهره‌ها، پیچ‌ها، آچارها و میخ‌ها عموماً دارای پوشش کادمیمی هستند (۳ و ۱۳). گیاه پالایی، تکنولوژی پاکسازی خاک‌ها و سیستم‌های آبی از فلزات سنگین آلاینده است (۱۲). از فواید گیاه پالایی این است که حاصل‌خیزی خاک بعد از برداشت فلزات سنگین تغییری نمی‌کند. البته تعداد زیادی از این تکنیک‌های مهندسی به دلیل محدودیت‌های اقتصادی و منطقی قابل اجرا نیست (۱۸). تأثیر و کارایی گیاهان انباشت‌کننده فلزات سنگین به مقدار زیادی بستگی به خصوصیات گیاهان از جمله سرعت رشد، بیوماس زیاد، دامنه تحمل و تجمع عناصر سنگین در خاک دارد. اخیراً دو نوع از گیاهان در آزمایشگاه و گلخانه بررسی شده است: نوع اول شامل گیاهانی است که به طور طبیعی انباشت‌کننده فلزات هستند مثل *Thlaspi caerulescens* که قادر است روی را به مقدار بیشتر از ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در بیوماس هوایی خود ذخیره کند. نوع دوم شامل گیاهان متحمل به آلاینده‌های فلزات سنگین از جمله *Brassica juncea* (خردل هندی) است که می‌تواند مقادیر زیادی از فلزات آلاینده را از خاک جذب نماید (۱۲ و ۳۹) غلظت فلزات در خاک از کمتر از ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم تا بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تغییر می‌کند که بسته به خصوصیات زمین‌شناسی خاک

یا فعالیت‌های انسان مقدار آن متغیر است. سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۴ حداکثر مقدار مجاز کادمیم را در خاک‌های کشاورزی ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم در نظر گرفته است (۳۴). دامنه میزان عنصر کادمیم در گیاهان بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲-۰/۰۵ (۲۶) و در حالت سمیت ۷۰۰-۵ (۲۶) و به گزارش دیگر ۱۰-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (۵). از آنجایی که درخت اکالیپتوس دارای پتانسیل زیادی در احیای زمین‌های بی‌حاصل و حتی زمین‌های غرقابی بوده (۱) و به طور وسیعی برای تولید ماده خام صنایع چوبی، سوخت چوبی و حتی به عنوان علوفه استفاده می‌شود و از طرفی دارای بیوماس بالا و سرعت رشد بالایی است، برای این تحقیق انتخاب گردید. در حال حاضر مطالعه‌های بسیار محدودی در زمینه جذب عناصر سنگین در اکالیپتوس انجام شده است (۱۷ و ۲۹). در تحقیقی اثر ۹ پساب صنعتی بر رشد نهال‌های *E. camaldulensis* بررسی و سازگاری این گونه نسبت به فاضلاب‌های صنعتی و شهری که حاوی مقادیر بالای فلزات سنگین از جمله مس، آهن، منگنز، روی و مقادیر کم عناصر معدنی از جمله کلسیم، منیزیم، پتاسیم، سدیم، نیتروژن و فسفر هستند، مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). نتایج نشان داد که مخلوط بعضی از پساب‌ها می‌تواند منجر به افزایش تولید بیوماس در *E. camaldulensis* شود (۱۱). هدف از تحقیق حاضر بررسی میزان تحمل اکالیپتوس در مقابل افزایش غلظت عنصر سمی کادمیم و نیز تأثیر این عنصر بر تعدادی از صفات مورفولوژی و فیزیولوژی این گونه می‌باشد. از اهداف دیگر این تحقیق این است که آیا می‌توان اکالیپتوس را به عنوان یکی از گیاهانی که توانایی انباشته‌سازی کادمیم را دارد معرفی نمود؟

## مواد و روش‌ها

بذرهای گونه *E. occidentalis* از شرکت Kim Seed از استرالیا خریداری گردید. این تحقیق در آزمایشگاه و گلخانه گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی واقع در مؤسسه تحقیقات

زمان و تفاوت در زنده ماندن یا حساسیت تیمارهای مختلف نشان نمی‌دهد (۳۵).

$$GS = \sum_{i=1}^n ni/Di \quad [2]$$

GS بیانگر سرعت جوانه‌زنی که در اینجا ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در روزهای شمارش و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش (۲):

$$VI=RL+SL \times GP \quad [3]$$

RL: طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)، SL: طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)، GP: درصد جوانه‌زنی و VI نیز شاخص بنیه بذر (Vigour index) است (۲):

جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیم در مرحله رویشی ابتدا بذرها در درون سیلیس با اندازه‌های ۱-۲ میلی‌متر در داخل اتاقک رشد با دمای روزانه ۲۳ درجه سانتی‌گراد (۱۲ ساعت) و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد (۱۲ ساعت) کاشته شدند. گلدان‌ها نیز با استفاده از آب ژاول ۲۰٪ ضد عفونی شدند. بعد از شروع جوانه‌زنی جهت آبیاری گلدان‌ها از محلول غذایی هوگلند استفاده شد (۳۰). بعد از گذشت سه ماه از جوانه‌زنی بذرها به منظور بررسی اثر تیمارهای کادمیم در مرحله رویشی، تیمارهای مختلف (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) به محلول غذایی اضافه گردید. به این منظور از نمک کلرید کادمیم استفاده شد. این تیمارها در سه تکرار بر پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. به مدت ۱۰ ماه تیمارها اعمال گردیدند و صفاتی از جمله وزن خشک ریشه، ساقه و برگ، نسبت وزن برگ، شاخص تنش تحمیل شده، مقدار کلروفیل a و b و کل، کارتنوئیدها، قند، پرولین، مقدار عنصر کادمیم در ریشه، ساقه و برگ، تعداد روزنه‌های سطح رویی و زیرین برگ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول از روش آنترون استفاده شد (۲۰). محتوی پرولین نیز بر اساس وزن تر اندازه گرفته شد (۹). رنگدانه‌های گیاهی نیز با استفاده از روش استن استخراج شدند (۲۱). اندازه‌گیری فلزات سنگین در برگ، ساقه و ریشه با استفاده از روش اکسیداسیون تر انجام گرفت (۳۸).

جنگل‌ها و مراتع کشور طی دو مرحله جوانه‌زنی و رویشی اجرا شد. ابتدا بذرهای سالم و درشت از بذرهای چروکیده و نابارور جدا و توسط الک ۷۰٪ به مدت ۱۰ ثانیه ضد عفونی گردیدند سپس بذرها با آب مقطر سه مرتبه شسته شده و به مدت ۲۰ دقیقه در محلول بنومیل ۱ در هزار ضد عفونی شدند. کلیه وسایل از جمله پتری‌دیش‌ها و کاغذ صافی‌ها در اتوکلاو استریل گردیدند. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. بعد از آماده نمودن پتری‌ها در داخل هر پتری ۳۰ عدد بذر قرار داده شد. در این مرحله ابتدا تیمارهای  $Cd(NO_3)_2$  (نیترات کادمیم) با غلظت‌های (صفر (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار آماده و بر بذرهای در داخل پتری‌دیش اعمال شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. البته قبل از انتخاب غلظت‌های مذکور مقادیر صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار کادمیم انتخاب گردیده بود که به دلیل عدم مقاومت این گیاه در مرحله رشد رویشی و از بین رفتن سریع نهال‌ها و در نتیجه عدم ثبت صفات، غلظت تیمارها بهینه گشت و غلظت‌های پایین‌تر انتخاب گردیدند. لازم به ذکر است که داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی با توجه به نتایج آزمایش نرمال بودن ( $P-Value < 0.05$ ) و رد فرض صفر مبنی بر نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش Arc Sin نرمال گردید و بعد تجزیه واریانس شد. جهت مقایسه اثر تیمارهای مختلف کادمیم بر طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، سرعت جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی از آزمون دانکن استفاده گردید. شاخص جوانه‌زنی (Germination index)، سرعت جوانه‌زنی (Germination speed) و شاخص بنیه (Vigour index) با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شد:

$$GI = (\sum TiNi) / S \quad [1]$$

GI بیانگر شاخص جوانه‌زنی، Ti تعداد روزهای پس از کشت، Ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز i و S تعداد کل بذرهای کاشته شده است. اندازه کم GI معمولاً بیانگر مدت زمان کوتاه‌تر جوانه‌زنی است. مزیت این روش سادگی آن است اگرچه هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد پراکنش جوانه‌زنی در طول

مقایسه قرار گرفت. برای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر پارامترهای مورد بررسی از آزمون دانکن استفاده شد.

### نتایج

#### اثر سطوح مختلف کادمیم بر صفات مختلف

تجزیه داده‌های حاصل از مقایسه مقدار قند در برگ‌های *E. occidentalis* نشان داد که میان شاهد و میان تیمارهای کادمیم اختلاف معنی‌داری وجود دارد به طوری که مقدار قند در تیمارهای ۵ میلی‌مولار کادمیم افزایش یافته است (جدول ۱). ولی در تیمارهای ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار کادمیم به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقدار پرولین نیز در اثر تنش کادمیم افزایش یافت. به طوری که در تیمار ۱۵ میلی‌مولار تقریباً به ۵ برابر مقدار شاهد رسید. هم‌چنین مقدار رنگیزه‌های گیاهی که شامل کلروفیل a, b و کاروتن بودند کاهش معنی‌داری یافتند. وزن اندام‌های گیاه (ساقه، ریشه و برگ) نیز کاهش نشان داد که از این میان کاهش وزن در برگ و ساقه محسوس‌تر بود. بررسی حاصل نشان داد که کادمیم در غلظت ۵ میلی‌مولار اثر چندانی بر تعداد روزنه سطح روئی برگ ندارد. ولی در غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری داشته است. در مورد تعداد روزنه سطح زیرین برگ اثر کادمیم مقداری متفاوت بود به طوری که حتی در غلظت ۵ میلی‌مولار کادمیم نیز کاهش معنی‌داری در تعداد روزنه زیرین اتفاق افتاد. مقایسه میانگین صفت LWR نیز تیمارها را به دو گروه دسته‌بندی نمود به طوری که تیمار شاهد در یک گروه و تیمارهای کادمیم در گروه مجزا قرار گرفتند. از نظر مقدار Ti نیز تیمارها به دو گروه دسته‌بندی شدند، به طوری که تیمار شاهد کمترین مقدار تنش تحمیل شده را نشان داد در حالی که تیمارهای کادمیم مقدار بالاتری را نشان دادند (جدول ۱).

مقدار جذب و تجمع کادمیم در ساقه، ریشه و برگ با یکدیگر متفاوت بودند (جدول ۱). به طوری که مقدار کادمیم جذب شده در ریشه در تیمار ۱۵ میلی‌مولار تقریباً ۵ برابر همین غلظت در برگ می‌باشد. به طور کلی با افزایش غلظت

شاخص اندازه‌گیری تنش تحمیل شده (Tolerance stress Index):

TI نسبت و معیاری برای مقایسه وزن خشک کل، بخش هوایی و ریشه گیاهان تحت تنش با تیمار شاهد می‌باشد و فاقد واحد است. این شاخص در واقع شدت تنش وارد بر گیاه را نشان می‌دهد. شاخص‌های وارده به ریشه، اندام هوایی و کل گیاه نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شدند (۱۴).

Yp: وزن ماده خشک در شرایط بدون تنش

$$Ti = \frac{Yp - Ys}{(Yp)} \quad [۴]$$

Ys: وزن ماده خشک در شرایط تنش

#### نسبت وزن برگ (Leaf Weight Ratio)

LWR میزان وزن برگ را بر اساس وزن خشک گیاه نشان می‌دهد. این اصطلاح در حقیقت بیانگر اختصاص یافتن ماده خشک به برگها در مقایسه با کل گیاه  $LWR = \frac{LDw}{W}$  است (LDw بیانگر ماده خشک برگ و W بیانگر وزن خشک کل گیاه است) (۱۴).

#### اندازه‌گیری تعداد روزنه و طول و عرض آن

ابتدا با استفاده از لاک بی‌رنگ یک لایه نازک از برگ لاک زده می‌شود بعد از اینکه لاک کاملاً خشک شد، با استفاده از چسب نواری لایه مورد نظر را از روی برگ جدا نموده و روی لام چسبیده می‌شود. سپس با استفاده از میکروسکوپ (Olympus, SZH10, Japan) تعداد روزنه را در بزرگنمایی ۴۰ بررسی کرده و با مقایسه با لام استاندارد ضریب تبدیل را در واحد میلی‌متر مربع حساب نموده و با استفاده از میکرومتر چشمی میکروسکوپ طول و عرض روزنه بر حسب میکرون محاسبه می‌شود.

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مراحل مختلف این تحقیق از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. در ابتدا توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk با توزیع نرمال مورد

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کادمیم بر صفات مختلف در گونه *E. occidentalis* به روش دانکن

| منابع تغییر | صفات                  | قند (μg/g d.w.)                             | پروتئین (μg/g f.w.)    | کلروفیل کل (mg/g f.w.) | کلروفیل a (mg/g f.w.)  | کلروفیل b (mg/g f.w.)  | کاروتن (mg/g f.w.)    | وزن ساقه (gr)         | وزن ریشه (gr)        | وزن برگ (gr)        | تعداد روزنه سطح رونی برگ | تعداد روزنه سطح زیرین برگ |
|-------------|-----------------------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------|
| شاهد        | ۸۰۹±۱۸۶ <sup>ab</sup> | ۴/۱±۰/۲۴ <sup>a</sup> / ۶±۰/۳ <sup>b</sup>  | ۲/۱±۰/۱ <sup>a</sup>   | ۱/۷±۰/۲۵ <sup>a</sup>  | ۱/۰/۶±۰/۷ <sup>a</sup> | ۱/۸±۰/۱/۲ <sup>a</sup> | ۰/۸±۰/۱۸ <sup>a</sup> | ۶/۴±۰/۵ <sup>a</sup>  | ۲۰۰±۵۸ <sup>a</sup>  | ۱۲۰±۵۸ <sup>a</sup> |                          |                           |
| Cd 5 mMl    | ۱۰۶۳±۱۶۰ <sup>a</sup> | ۳/۱±۰/۱۵ <sup>b</sup> / ۶±۰/۲۸ <sup>b</sup> | ۱/۷±۰/۱۶ <sup>ab</sup> | ۱/۱±۰/۱۵ <sup>b</sup>  | ۵/۱۵±۰/۵۵ <sup>b</sup> | ۱/۲±۰/۱ <sup>b</sup>   | ۰/۷۴±۰/۱ <sup>a</sup> | ۴/۸±۰/۱۵ <sup>b</sup> | ۱۹۳±۱۲۰ <sup>a</sup> | ۹۱۶±۴۴ <sup>b</sup> |                          |                           |
| Cd 10 mMl   | ۷۰۰±۳۷ <sup>b</sup>   | ۲/۷±۰/۴ <sup>b</sup> / ۷±۰/۳۵ <sup>b</sup>  | ۱/۵±۰/۲۳ <sup>b</sup>  | ۱/۰۶±۰/۱ <sup>b</sup>  | ۳/۵±۰/۴ <sup>c</sup>   | ۱/۷±۰/۱ <sup>a</sup>   | ۰/۶۷±۰/۱ <sup>a</sup> | ۵/۱±۰/۲ <sup>b</sup>  | ۱۶۰±۵۸ <sup>b</sup>  | ۸۸۳±۷۳ <sup>b</sup> |                          |                           |
| Cd 15 mMl   | ۵۷۳±۵۸ <sup>b</sup>   | ۱/۶±۰/۱ <sup>c</sup> / ۶±۲/۶ <sup>a</sup>   | ۰/۹±۰/۱۲ <sup>c</sup>  | ۰/۶±۰/۰۵ <sup>b</sup>  | ۳/۲±۰/۴ <sup>c</sup>   | ۱/۴±۰/۲ <sup>ab</sup>  | ۰/۶۵±۰/۱ <sup>a</sup> | ۴/۷±۰/۳ <sup>b</sup>  | ۱۵۰±۱۱۵ <sup>b</sup> | ۸۳۳±۸۸ <sup>b</sup> |                          |                           |

  

| منابع تغییر | صفات                  | نسبت وزن برگی (LWR) <sup>۱</sup> | شاخص تنش تحمیل شده (Ti) | کادمیم ساقه (mg/kg)  | کادمیم ریشه (mg/kg)   | کادمیم برگ (mg/kg)     | شاخص بنیه بذر          | سرعت جوانه زنی        | شاخص جوانه زنی     | درصد طول ساقه چه طول ریشه چه جوانه زنی (سانتی متر) | درصد طول ساقه چه طول ریشه چه جوانه زنی (سانتی متر) |
|-------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|--|--|
| شاهد        | ۰/۵±۰/۰۴ <sup>b</sup> | ۰/۰ <sup>b</sup>                 | ۰/۵±۰/۰۷ <sup>c</sup>   | ۱/۴±۰/۲ <sup>d</sup> | ۰/۶±۰/۰۳ <sup>d</sup> | ۳/۱۳±۱/۲۵ <sup>a</sup> | ۰/۳±۰/۰۴ <sup>ab</sup> | ۱/۷±۰/۳۲ <sup>a</sup> | ۹۲±۱۳ <sup>a</sup> | ۶/۷±۰/۹ <sup>a</sup>                               | ۱۸±۳/۰۶ <sup>a</sup>                               |
| Cd 5 mMl    | ۰/۷±۰/۰۶ <sup>a</sup> | ۰/۲±۰/۰۲ <sup>a</sup>            | ۵۲/۱±۲/۷ <sup>b</sup>   | ۲۹۴±۱۵ <sup>c</sup>  | ۶۲±۴/۲ <sup>c</sup>   | ۱۴/۷±۰/۷ <sup>b</sup>  | ۰/۴±۰/۰۳ <sup>a</sup>  | ۲±۰/۰۴ <sup>b</sup>   | ۱۰۰ <sup>a</sup>   | ۸±۰/۸ <sup>a</sup>                                 | ۶/۷±۰/۷ <sup>b</sup>                               |
| Cd 10 mMl   | ۰/۷±۰/۰۵ <sup>a</sup> | ۰/۳±۰/۰۳ <sup>a</sup>            | ۵۹±۷/۲ <sup>b</sup>     | ۵۱۵±۴۲ <sup>b</sup>  | ۸۳/۴±۵/۲ <sup>b</sup> | ۲/۸±۰/۶ <sup>c</sup>   | ۰/۴±۰/۰۴ <sup>a</sup>  | ۲/۱±۰/۱ <sup>c</sup>  | ۱۰۰ <sup>b</sup>   | ۲±۰/۵ <sup>b</sup>                                 | ۰/۸±۰/۲ <sup>c</sup>                               |
| Cd 15 mMl   | ۰/۷±۰/۰۸ <sup>a</sup> | ۰/۳±۰/۰۵ <sup>a</sup>            | ۸۷/۵±۴/۲ <sup>a</sup>   | ۵۸۵±۳۳ <sup>a</sup>  | ۱۴۲±۰/۱۲ <sup>a</sup> | ۱/۲±۰/۲۲ <sup>c</sup>  | ۰/۲±۰/۰۷ <sup>b</sup>  | ۱/۴±۴ <sup>c</sup>    | ۶۶±۱۸ <sup>b</sup> | ۰/۴±۰/۱ <sup>b</sup>                               | ۰/۴±۰/۱ <sup>c</sup>                               |

میانگین هایی که در هر ستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد نیست.

1. Tolerance Index
2. Leaf Water Ratio

جوانه زنی کاسته شد. اثر جالب توجه دیگر کادمیم بر روی طول ساقه چه بود به طوری که مقدار کادمیم ۵ میلی مولار باعث تحریک طول ساقه چه گشت در حالی که در غلظت های بالاتر این یون از طول ساقه چه به شدت کاسته گردید. طول ریشه چه به ترتیب با افزایش غلظت کاسته شد.

## بحث

### اثر کادمیم بر میزان قندهای محلول

بسیاری از شرایط تنش زای محیطی بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می گذارند. افزایش مقدار قندهای احیاکننده تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (۱). در این تحقیق همان طور که مشاهده می شود با افزایش غلظت کادمیم ابتدا بر میزان قندهای

کادمیم بر مقدار جذب شده در ساقه، برگ و ریشه به ترتیب افزایش یافت. غلظت کادمیم در ریشه نسبت به برگ به طور قابل توجهی بیشتر بود. علت وجود مقداری اندک کادمیم در اندام های گیاهی در تیمار شاهد نیز نشان دهنده خطای آزمایش در مراحل مختلف که شامل آبیاری، برداشت و عصاره گیری است. یون کادمیم آثار معنی دارتری در مرحله جوانه زنی نسبت به مرحله رویشی از خود نشان داد. به طور مثال در مورد شاخص بنیه بذر تیمارهای مختلف کادمیم اثر چشمگیری در کاهش این شاخص نسبت به تیمار شاهد شدند. البته در مورد سرعت جوانه زنی مقادیر ۵ و ۱۰ میلی مولار کادمیم باعث افزایش سرعت جوانه زنی شدند ولی در تیمار ۱۵ میلی مولار از سرعت جوانه زنی کاسته شد. شاخص جوانه زنی نیز در اثر افزایش غلظت کاهش یافت. در مورد درصد جوانه زنی تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی مولار کادمیم باعث افزایش درصد جوانه زنی شدند، در حالی که در تیمار ۱۵ میلی مولار از درصد

### اثر کادمیم بر میزان رنگیزه‌های گیاهی

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش یون کادمیم از مقدار رنگیزه‌های گیاه به طور معنی‌داری کاسته شد. نتایج این تحقیق با نتایج دیگر محققان همخوانی دارد (۱۴ و ۲۲). در تحقیقی که روی دو علف هرز *Cyperus* و *Digitaria* انجام گرفت کاهش معنی‌داری در میزان کلروفیل در اثر اعمال ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کادمیم دیده شد (۱۴). در چغندر قند نیز کاهش میزان کلروفیل و نیز فتوستت در اثر افزایش غلظت کادمیم گزارش شده است (۱۶). انتقال یون به اندام‌های هوایی و در نهایت تجمع آن در سلول‌های برگ باعث بروز علائم موفولوژیک و فیزیولوژیک تنش یون در برگ می‌شود که از شاخص‌ترین این علائم کلروزگی است (۱۰) که این علائم به وضوح در تیمار با کادمیم در این تحقیق نیز دیده شد. جان و همکاران گزارش نمودند که این کلروزگی به علت بیوستت ناقص کلروفیل بوده است (۲۳). بنابراین محتوای کلروفیل برگ به مقدار قابل توجهی کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از این تحقیق نیز بیانگر کاهش چشمگیر در مقدار کلروفیل برگ است. از طرفی دیگر وجود کادمیم در سلول‌های برگ باعث کاهش میزان کاروتنوئیدها می‌شود که در این تحقیق هم کاملاً این اثر مشاهده شد (جدول ۱). برهم کنش بین یون کادمیم و یون منگنز در سلول می‌تواند دلیل احتمالی مهار انتقال الکترون در سطح کمپلکس شکست آب باشد که در نهایت باعث کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوستتزی کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (۲۱).

### اثر کادمیم بر وزن اندام‌های گیاه

در حضور یون کادمیم رشد گیاه بسیار کاهش می‌یابد (جدول ۱). در حقیقت کادمیم از تقسیم سلول‌های منطقه مریستمی و رشد سلول‌های منطقه رشد جلوگیری می‌کند (۱۵). از طرف دیگر تمایز زودرس و چوبی شدن دیواره سلول‌های واقع در منطقه رشد طولی سلول می‌تواند از دلایل دیگر کاهش رشد ریشه باشد که این اثر همراه با تغییر رنگ ریشه نیز

محلول اضافه ولی در غلظت‌های بالاتر کاهش یافته است. جان و همکاران (۲۴) در گیاه *Duckweed* که یکی از گیاهان آبی و به عنوان تجمع‌کننده عناصر شناخته شده است، اثر تیمارهای مختلف کادمیم را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که در غلظت‌های زیر  $30 \text{ mg/L}$  میزان قندهای محلول، پرولین و پروتئین‌ها افزایش یافته ولی در غلظت‌های بالاتر، مقدار پارامترهای ذکر شده کاهش یافتند (۲۴). وجود یون کادمیم در سیتوسول سلول‌های برگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیر محلول و اسید اینورتاز و سوکروز سنتز می‌شود (۳۳) در نتیجه در غلظت‌های پایین کادمیم بر مقدار قندهای محلول اضافه شده است ولی علت کاهش در غلظت‌های بالاتر احتمالاً به دلیل کاهش فتوستتزی یا تحریک سرعت تنفس می‌باشد (۴).

### اثر کادمیم بر میزان پرولین

در اثر افزایش غلظت کادمیم میزان پرولین در برگ‌ها تا پنج برابر افزایش یافت. در حقیقت مکانیسم متابولیکی جهت مقابله با تنش کادمیم منجر به افزایش میزان این آنزیم گشته است. در مورد اثر کادمیم بر میزان پرولین در گونه‌های درختی گزارشی یافت نشد. در آراییدوپسیس افزایش غلظت پرولین و گلوتانین در اثر افزایش غلظت کادمیم گزارش گردیده است (۴۰). ایوایز (۴۳) نشان داد که افزایش غلظت کادمیم، نیکل و سرب باعث افزایش میزان پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در چند گونه علف هرز گردید (۱۴). در تحقیق دیگری که روی *Brassica juncea* انجام گرفت نشان داده شد که غلظت‌های کم کادمیم باعث افزایش پرولین، ولی غلظت‌های بالاتر سبب کاهش پرولین گردید. چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در حین تنش پیشنهاد شده است که عبارت‌اند از: الف) تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک ب) کاهش صادرات آن از طریق آنزیم آکسیداز ج) جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش د) تخریب و اختلال در فرآیند سنتز پروتئین (۲۸).

کاهش تعدادی از صفات جوانه‌زنی از جمله طول ریشه‌چه، شاخص بینه بذر و سرعت جوانه‌زنی منجر به کاهش گردید. ولی در مورد صفاتی از جمله شاخص جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه در تیمارهای پایین کادمیم افزایش ولی بعد از آن منجر به کاهش این صفات گردید. یکی از دلایل این امر می‌تواند مربوط به این موضوع باشد که ساقه‌چه بیرون از محلول کادمیم قرار دارد و ریشه‌چه در تماس مستقیم با این فلز سنگین است، در نتیجه بیشتر تحت تأثیر آثار مخرب کادمیم می‌باشد. نتایج این تحقیق با دیگر محققین همسوئی دارد (۲۴ و ۳۱).

### نتیجه‌گیری

از مهم‌ترین نتایج این تحقیق مشخص نمودن مقدار کادمیم جذب شده در گونه *E. occidentalis* بود که تاکنون گزارش نشده است. غلظت کادمیم در تیمار ۵ میلی مولار به ترتیب در ریشه، برگ و ساقه ۲۹۴، ۶۲ و ۵۲ در تیمار ۱۰ میلی مولار نیز ۵۱۵، ۸۳ و ۵۹ و در تیمار ۱۵ میلی مولار نیز ۵۸۵، ۱۴۲ و ۸۷ میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود. در تیمار شاهد نیز مقدار کمی کادمیم که حدود ۰/۶ میلی گرم در برگ‌ها بود دیده شده که احتمالاً به دلیل آلودگی وسایل در مراحل مختلف است. هم‌چنین مقایسه تجمع و انتقال کادمیم در این مطالعه نشان داد که جذب این فلز در ریشه بیشتر از مقدار آنها در ساقه و برگ است. با توجه به این که مقدار ارزش تعریف شده توسط یک گیاه جمع‌کننده کادمیم حداقل ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک است (۶) و از آنجایی که در تیمار ۱۵ میلی مولار مقدار کادمیم جذب شده ۱۴۲ است در نتیجه می‌توان اکالیپتوس را به عنوان گیاه جمع‌کننده کادمیم معرفی نمود. هم‌چنین اثر جذب کادمیم بر تعدادی از پارامترهای فیزیولوژی این گونه مشخص شد. از نتایج دیگر ارزیابی امکان احیای مناطق آلوده به کادمیم توسط اکالیپتوس بود که با توجه به وسعت مناطق آلوده صنعتی، پتروشیمی، نیروگاه‌ها و مناطق آلوده وسیع شهری نیازمند به کاشت گیاهان سریع‌الرشد و مقاومی چون اکالیپتوس می‌باشیم.

خواهد بود (۱۵). مشاهدات حاصل از تحقیق حاضر نیز حاکی از تغییر رنگ ریشه بود و ریشه‌ها قهوه‌ای رنگ بودند. کاهش وزن اندام‌ها به علت اختلال در متابولیسم کلی سلول‌هاست (۲۲). نتایج حاصل از مطالعه دانشمندان نشان داده است که میزان پراکسیداسیون چربی‌ها به علت افزایش مقدار پراکسید هیدروژن در سلول در حضور یون کادمیم افزایش می‌یابد. این وضعیت باعث برهم خوردن تعادل آبی و تغذیه‌ای سلول شده که این یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش وزن گیاه می‌باشد (۳۳). همان‌طور که از نتایج این تحقیق مشخص است این اختلال بیشتر در ساقه و برگ دیده شد.

### اثر کادمیم بر تعداد روزنه

استرس کادمیم باعث کاهش تعداد روزنه در سطح روئی و زیری برگ گردید. نتایج دیگر محققین نیز مؤید همین نتیجه می‌باشد (۷، ۸، ۱۰ و ۴۲). احتمالاً کادمیم از پیشروی تقسیم سلول‌های محافظ، مریستم‌ها، تمایز آنها به سلول‌های محافظ مادر و یا تقسیم نهایی سلول محافظ مادر به دو جفت سلول‌های محافظ جلوگیری می‌نماید (۱۰). در تحقیق دیگری نشان داده شد که کادمیم اثر منفی بر رشد برگ‌ها دارد (۷). اگرچه بین سمیت کادمیم و تمایز اپیدرمی به روزنه و یا اثر کادمیم بر بیان ژن‌های نظیر به نظیر اخیراً بحث شده است (۱۰). هم‌چنین کادمیم باعث کاهش تراکم مزوفیل کلروپلاست‌ها، ارگانل‌های محتوی کلروفیل و افزایش تعداد سلول‌های مزوفیل زیر روزنه می‌شوند (۸). البته در تحقیق حاضر میزان کاهش تعداد روزنه در سطح روئی و زیری تقریباً به یک نسبت صورت گرفت. ولی نقش کادمیم در این تقابل ناشناخته است. هم‌چنین این امکان وجود دارد که کادمیم مسبب تغییراتی در محیط بین سلولی می‌شود که متعاقباً ممکن است باعث کنترل رشد روزنه‌ها شود (۱۰).

### اثر کادمیم بر خصوصیات جوانه‌زنی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزایش غلظت کادمیم باعث

نهال‌های اکالیپتوس در مناطق آلوده کاشته شده و نمونه‌برداری در چند سال متوالی انجام گردد و لذا جهت کاربردی شدن نتایج تحقیق حاضر پیشنهاد می‌شود که ادامه این تحقیق در عرصه نیز انجام گردد.

از طرفی با توجه به آلودگی بسیار بالای شهرهای بزرگی چون تهران، اصفهان، شیراز و ... لزوم استفاده از گیاه همیشه سبز اکالیپتوس کاملاً مشخص است. البته برای اینکه مشخص شود چه میزان اکالیپتوس جهت پاکسازی خاک‌ها باید کاشته شود نیاز به یک تحقیق گسترده در عرصه می‌باشد که در طی آن

### منابع مورد استفاده

۱. عصاره، م. ح. و ا. شریعت. ۱۳۸۷. بررسی مقاومت به شوری در مرحله جوانه‌زنی و رشد رویشی در چهار گونه اکالیپتوس. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (۱۵): ۶: ۱۴۵-۱۵۷.
۲. عیسوند، ح. ر. و م. ع. علیزاده. ۱۳۸۲. بررسی برخی فاکتورهای کیفیت فیزیولوژیکی بذر (درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه) گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت شرایط آزمون پیری زودرس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتعی ایران ۱۱(۲): ۶.
3. Adriano, D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Springer-Verlag, New York.
4. Ahmad, P., S. Sharma and P. S. Srivastava. 2006. Differential physio-biochemical responses of high yielding varieties of Mulberry (*Morus alba*) under alkalinity ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) stress *in vitro*. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 12: 59-66.
5. Bahlberg-Pahlsson, A.M. 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water Air Soil Pollut.* 47: 287-319.
6. Baker, A., S. McGrath, R. Reeves and J. Smith. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for phytoremediation of metal-polluted soils. PP. 85-107. *In: Terry N and Bauelos G (Eds.), Phytoremediation of contaminated soil and water (Lewis Publishers, Florida, USA).*
7. Barcelo, J, Vazquez, MD, Poschenrieder, C. 1988. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytol.* 108: 37-49.
8. Baryla, A., P. Carrier, F. Franck, C. Coulomb, C. Sahut and M. Havaux. 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta* 212: 696-709. [Medline]
9. Bates, I.S., R. P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
10. Bergmann, DC. 2004. Integrating signals in stomatal development. *Current Opinion in Plant Biol.* 7: 26-32.
11. Bhati, M. and G. Singh. 2003. Growth and mineral accumulation in *Eucalyptus camaldulensis* seedlings irrigated with mixed industrial effluents. *Bioresour. Technol.* 88:221-228.
12. Clements, S., M.G. Plamegren and U. Kramer. 2002. Along way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Sci.* 7: 309-316.
13. Cordero, B., P. Lodeiro, R. Herrero and M. Esteban Sastre de Vicente. 2004. Biosorption of cadmium by *Fucus spiralis*. *Environ. Chem.* 1: 180-187.
14. Ewaise, E.A. 1997. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weed. *Biologica Plantarum* 39(3):403-410.
15. Fusconi, A., C. Gallo and W. Camusso 2007. Effect of cadmium on root apical meristems of *Pisum sativum* L.: cell viability, cell proliferation and microtubule pattern as suitable makers for assessment of stress pollution. *Mutat Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen* 632:9-19.
16. Greger, M. and E. Ogren. 1991. Direct and indirect effects of Cd on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiologia Plantarum.* 83: 129-135.
17. Hudnell, H. 1999. Effects from environmental Mn exposure: A review of the evidence from non-occupational exposure studies. *Neurotoxicol* 20:379-398.
18. Hulme, K. A. and S. M. Hill. 2004. Seasonal element variations of *Eucalyptus camaldulensis* biogeochemistry and implications for mineral exploration: an example from teilita, Curnamona Province, Western NSW. *Regolith.*



- CRC LEME, pp.151-156.
19. Illera, V., F. Garrido, S. Serrano and M. T. García-González. 2004. Immobilization of the heavy metals Cd, Cu and Pb in an acid soil amended with gypsum and lime-rich industrial by-products. *Eur. J. Soil Sci.* 55: 135–145.
  20. Irigoyen, J.J., D.W. Einerich and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84:1.58-60.
  21. Jason, A. 1978. Chlorophyll and Carotenoid: Handbook of Physiological Method. Cambridge University Press, Cambridge, New York.
  22. Jeliaskova, E.A., L.E. Craker and B. Xing. 2003. Seed germination of anise, caraway, and fennel in heavy metal contaminated solutions. *J. Herbs, Spices and Med. Plants* 10(3): 83-93.
  23. John, R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma. 2008. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil Environ.* 54 (6): 262–270.
  24. John, R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *Intl. J. Plant Prod.* (3):1735-8043
  25. Kuznetsov, V.I. and N. I. Shevyakova. 1999. Prolin under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Russian J. Plant Physiol.* 46:274-287.
  26. Lagriffoul, A., B. Mocquot, M. Mench and J. Vangronsveld. 1998. Cadmium toxicity effects on growth and chlorophyll contents and activities of stress related enzymes in young mayz plants (*Zea mayz*). *Plant and Soil* 2000: 241 – 250.
  27. Levy, D.B., E.F. Redente and G.D. Uphoff. 1999. Evaluating the phytotoxicity of Pb-Zn tailings to big bluestem (*Andropogon gerardii* vitman) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Soil Sci.* 164(6):363-375.
  28. Llamas, A., C.I. Ullrich and A. Sanz. 2000. Cadmium effects on transmembrane electrical potential difference, respiration and membrane permeability of rice (*Oryza sativa*) roots. *Plant and Soil* 219 : 21-28.
  29. Lutts, S.J., M. Kint and J. Bouharmount. 1996. Effect of various salts and mannitol on ion and prolin accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa*) callus cultures. *J. Plant Physiol.* 149: 186-195.
  30. Moor, R.H. 1960. Laboratory Guide for Elementary Plant Physiology. Burgess Pub., Minneapolis.
  31. Orlic, I., R. Siegele, D.D. Menon, S.J. Markich, D.D. Cohen, R.A. Jefree, D.C. McPhail, A. Sarbutt and E. Stelcer. 2002. Heavy metal pathways and archives in biological tissue. *Nuclear Instruments and Methods in Phys. Res. B*, 190: 439-444.
  32. R. Kastori, M. Petrovicacuta and N. Petrovicacuta. 1992. Effect of excess lead, cadmium, copper, and zinc on water relations in sunflower. *J. Plant Nutr.* 15(11): 2427 – 2439.
  33. Sanita di Toppi, L. and R. Gabbrielli. 1999. Response to cadmium in higher plants- review. *Environ. and Experim. Bot.* 41:105-130
  34. Schickler, H. and C. Hadar. 1999. Response of the genus *Alyssum*. *Physiol Plant* 105: 39-45.
  35. Schnoor, J. 2004. Australasian soil contamination gets attention. *Environ. Sci. and Technol.* 38, 53A (one page only).
  36. Scott, S.J., R.A. Jones and W.A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Sci.* 24:1192-1199.
  37. Tudoreanu, L. and C.J.C. Phillips. 2004. Modeling cadmium uptake and accumulation in plants. *Adv. in Agron.* 84: 121–157.
  38. Verma, S. and R.S. Dubey. 2001 Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of heir metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 1: 117- 123.
  39. Westerma, R.E.L. 1990. Soil Testing and Plant Analysis. SSSA. Madison, WI. USA.
  40. Xu, J., H. Yin, X. Liu, X. Li. 2010. Salt affects plant Cd-stress responses by modulating growth and Cd accumulation. *Planta* 231:449–459
  41. Yang, X.E., X.X. Long, W.Z. Ni and C.X. Fu. 2002. *Sedum alfredii* H- a new zinc hyperaccumulating plant species native to China. *Chinese Sci. Bull.* 47: 1003-1006.
  42. Yoshiba, Y., T. Kiyosue, K. Nakashima, K. Yamaguchi-Shinozaki and K. Shinozaki. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under stress. *Plant water stress. Plant Cell Physiol.* 38:1095-1102.