

اثر کادمیوم بر ویژگی‌های ریختی-تشریحی و میزان رنگیزه‌های گیاه نیشکر

(Saccharum officinarum L.) واریته ۱۰۳-۴۸ 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 زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۳۱

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 سانتی‌گراد در غلظت‌های مختلف کادمیوم ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰، ۰ میکرومولار بر لیتر قرار گرفتند. پس از نمونه‌برداری، ویژگی‌های ریخت‌شناسی 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 وزن تر، 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، آگزودرم 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.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه، ساختار تشریحی، کادمیوم، ریخت‌شناسی، نیشکر.

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

مقدمه

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).

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 فسفات، آفت

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 C₄ 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

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 می‌گردد. 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،

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 ۴۶۶/۸،
 ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان
 جذب خوانده شد. سپس طبق فرمول‌های زیر غلظت
 رنگیزه‌ها محاسبه گردید.

$$\text{Chl}_a (\mu\text{g/ml}) = 12/25A_{663} - 2/79A_{646}$$

$$\text{Chl}_b (\mu\text{g/ml}) = 21/50A_{646} - 5/10A_{663}$$

$$\text{Chl}_{\text{Total}} (\mu\text{g/ml}) = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b$$

$$\text{Car} (\mu\text{g/ml}) = (1000A_{470} - 1/82\text{Chl}_a - 85/02\text{Chl}_b) / 198$$

در این فرمول‌ها Chl_a ، Chl_b ، $\text{Chl}_{\text{Total}}$ 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 (۵/۰ سانتی 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.

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 ۱۰۳-۴۸ Cp 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 ریخت‌شناسی: 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

نتایج

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

ویژگی‌های ریخت‌شناسی: طبق جدول ۱ 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، بطوری که کمترین میزان طول و عرض برگ در غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر کادمیوم کلرید و بیشترین میزان در گیاهچه شاهد و غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد (جدول ۱). طبق جدول ۱، 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 ($p < 0/05$). 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 کمی و آماری میزان شاخص root/shoot نشان دهنده‌ی کمترین مقدار این شاخص در غلظت ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر است ($p < 0/05$).

طبق بررسی انجام گرفته شاخص مقاومت ریشه نیز تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار کادمیوم تغییر کرد. بطوری که با

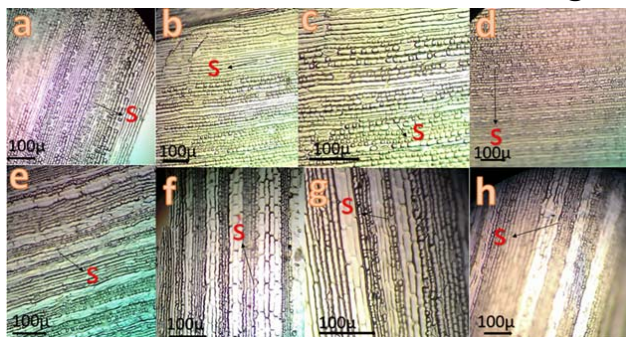
اعمال تیمار این شاخص رو به کاهش بود و کمترین میزان آن را در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر مشاهده شد. به عبارتی نسبت میانگین طول ریشه تحت تیمار نسبت به ریشه گیاه شاهد در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر بیشترین میزان کاهش را بروز داد ($p < 0/05$).

سنجش رنگیزه‌های گیاه: مقایسه نتایج حاصل از سنجش میزان رنگیزه‌های گیاهی نشان دهنده‌ی کاهش معنادار میزان کلروفیل (Chla) a، کلروفیل (Chlb) b، کلروفیل کل (ChIT) 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 (جدول ۱). تغییرات میزان Chlb نشانگر کمترین مقدار آن در غلظت ۵۰۰ میکرومولار و کاهش معنادار نسبت به سایر غلظت‌ها می‌باشد ($p < 0/05$). تفاوت چشمگیری در میزان Chlb در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تحت تیمار (غلظت ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر) مشاهده نشد. میزان کل کلروفیل (ChIT) 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 (جدول ۱).

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 ($p < 0/05$).

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 ($p < 0.05$) (شکل ۱ و جدول ۱).

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 ($p < 0.05$) (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱- 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 ۱۰۰ میکرومولار 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.

جدول ۱- بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم کلرید بر ویژگی‌های مورفومتری و میزان رنگیزه‌های گیاه نیشکر واریته cp48-103

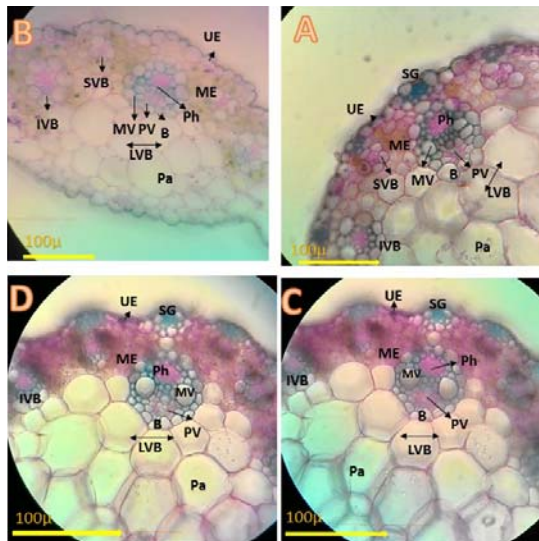
پارامتر	شاهد	۱۰۰ μM CdCl ₂	۲۵۰ μM CdCl ₂	۵۰۰ μM CdCl ₂
وزن تر گیاهچه (g)	۱/۲۲۳±۰/۱۳۶ ^a	۱/۱۹۶±۰/۰۷۰ ^a	۱/۰۸۳±۰/۰۸۶ ^{ab}	۰/۹۵۶±۰/۰۱۵ ^b
وزن تر برگ (g)	۱/۰۱۶±۰/۰۵۷ ^a	۰/۹۶۳±۰/۱۵۱ ^{ab}	۰/۸۱۳±۰/۰۴۶ ^b	۰/۶۰۶±۰/۰۲۵ ^c
وزن تر ریشه (g)	۰/۱۵±۰/۰۴ ^a	۰/۳۵±۰/۱۴ ^b	۰/۲۷۶±۰/۱۶ ^c	۰/۲۱۶±۰/۰۱۵ ^d
طول برگ سبز (cm)	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±۰/۰۷۷ ^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±۰/۰۳۰ ^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±۶/۰۸۶ ^a	۳۶±۳/۶۰ ^a	۳۹±۶/۰۸۳ ^a	۶۲±۹/۶۴۳ ^b
میزان Chla (mg/g F.W)	۰/۳۵۲±۰/۲۵۱ ^a	۰/۱۹۰±۰/۰۹۶ ^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±۰/۰۱۵ ^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±۰/۰۲۷ ^c
کارتونوئیدها (mg/g F.W)	۰/۲۸۸±۰/۰۰۹۶ ^a	۰/۴۲۳±۰/۳۴۷ ^a	۰/۷۱۵±۰/۴۱۹ ^c	۱/۰۰۹±۰/۳۶۳ ^d

ویژگی‌های تشریحی

برش عرضی برگ گیاه نیشکر حاکی از تغییرات تشریحی قابل تشخیصی در ابعاد عناصر آوندی، سلول‌های پارانشیمی، کلاهدک فیبری و ضخامت برگ گیاهچه‌های

تشریح برگ: بررسی و آنالیز تصاویر عکس‌برداری شده از

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 ($p < 0/05$) (جدول ۲).



شکل ۲- بررسی تغییرات تشریحی برش عرضی برگ گیاه نیشکر تحت تیمار کادمیوم، (A-شاهد)، (B-۱۰۰۰ میکرومولار $CdCl_2$)، (C- ۲۵۰ میکرومولار $CdCl_2$)، (D-۵۰۰ میکرومولار $CdCl_2$) B غلاف آوندی، SG کلاهک فیبری، Ph فلوم، MV متنازایلم، Pa پروتوزایلم، 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 بولی فرم در برگ‌های تحت تیمار کادمیوم، افزایش معناداری پیدا کرد ($p < 0/05$) (جدول ۲). ضخامت برگ گیاه تحت تنش فلز کادمیوم نسبت به گیاهچه شاهد افزایش چشمگیری داشته، بطوری‌که در غلظت ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر، بیشترین میزان ضخیم‌شدگی برگی دیده شد (جدول ۲).

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

شاهد و تحت تیمار می‌باشد. با مقایسه ابعاد دهانه‌ی متنازایلم دستجات آوندی در برگ، نتیجه‌گیری شد که افزایش غلظت کادمیوم منجر به افزایش معنادار مساحت، محیط و شعاع دهانه‌ی متنازایلم 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 متنازایلم نسبت به مساحت آن سریع‌تر دستخوش تغییر شد. در سطوح تیمار شاهد، ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار بر لیتر تفاوت معناداری از لحاظ مساحت دهانه‌ی متنازایلم مشاهده نگردید، در حالی‌که محیط و شعاع دهانه متنازایلم همزمان با اعمال تیمار افزایش یافت ($p < 0/05$) (جدول ۲ و شکل ۲). مقایسه‌ی بافت فلوم 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 فلوم در سطوح شاهد و ۱۰۰ میکرومولار و کمترین در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار دیده شد ($p < 0/05$) (جدول ۲ و شکل ۲). غلاف آوندی در برگ با اعمال تیمار کادمیوم دستخوش تغییراتی شد. بطوری‌که با اعمال تیمار دستجات آوندی بالغ‌تر و بزرگ‌تر شدند. طبق جدول ۲ 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 ($p < 0/05$). 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 (جدول ۲ و شکل ۲). مقایسه سطوح مختلف سلول پارانشیمی در گیاه شاهد و تحت تیمار، کاهش معناداری را نشان می‌دهد. با افزایش میزان کادمیوم

شد. بطوری‌که تعداد بازوهای چوبی با اعمال تیمار کادمیوم سیر افزایشی داشت. بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع دهانه متازایلم در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بر لیتر و بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع پروتوزایلم در غلظت ۵۰۰ مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول ۳ و شکل ۳).

تشریحی مشاهده شد. بطورکلی ابعاد اغلب سلول‌های ریشه مثل آوندهای چوب (متازایلم و پروتوزایلم)، سلول آندودرم، سلول آگزودرم، سلول آبکشی، سلول کورتکس با اعمال تیمار کادمیوم سیر افزایشی داشت. با بالا رفتن غلظت کادمیوم آرایش آوندی در ریشه دستخوش تغییر

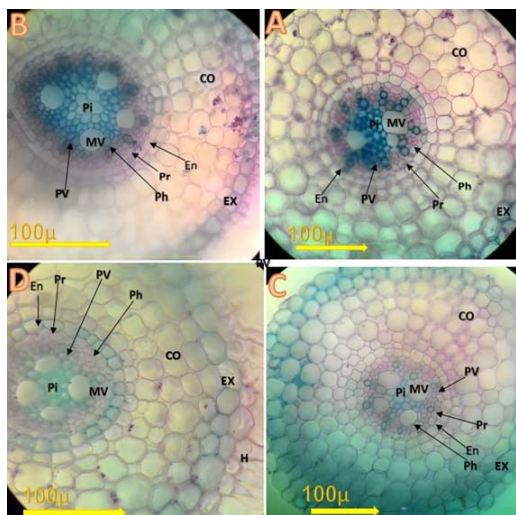
جدول ۲- بررسی اثر غلظت‌های مختلف تیمار کادمیوم کلرید بر ویژگی‌های تشریحی برگ گیاه نیشکر واریته cp48-103.

پارامتر	شاهد	۱۰۰µM CdCl2	۲۵۰µM CdCl2	۵۰۰µM CdCl2
سطح دهانه متازایلم (μm^2)	۱۷۸/۴۵±۷/۱۱ ^a	۲۲۱/۸۵±۳/۰۶ ^a	۲۴۱/۶۴±۰/۳۴ ^a	۲۴۸/۵±۱/۳ ^b
محیط دهانه متازایلم (μm)	۴۷/۱۷۳±۵/۸۸ ^a	۵۲/۷۷۷±۲/۰۲ ^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 فلونم (μm^2)	۴۷۵/۰۳۳±۰/۸۴ ^a	۳۲۳/۱۸۸±۰/۰۴ ^b	۲۲۶/۰۹±۰/۰۲ ^c	۱۹۳/۲±۰/۲۲ ^d
محیط بافت فلونم (μm)	۹۰/۳۲۱±۰/۷۰۷ ^a	۹۱/۷۴۴±۰/۷۰۷ ^a	۵۶/۹۹۹±۰/۷۰ ^b	۵۹/۰۷۲±۲/۱۲ ^b
طول بافت فلونم (μ)	۳۱/۵۹۷±۰/۰۹۸ ^a	۳۰/۵۲۶±۰/۷۰۷ ^a	۲۰/۹۴۵±۰/۷۰۷ ^b	۱۹/۶۷۱±۰/۴۵ ^b
مساحت کلاهدک فیبری (μm^2)	۲۷۶/۶۴±۰/۵۶ ^a	۲۶۱/۳۸۲±۰/۲۸ ^a	۲۳۹/۲±۰/۵۶ ^b	۱۴۳/۴۹۱±۱/۱۲ ^c
محیط کلاهدک فیبری (μm)	۹۶/۴۹۵±۰/۷۰۷ ^a	۸۳/۰۶۶±۰/۷۰ ^b	۶۵/۶۵۳±۲/۱۲۱ ^c	۵۵/۹۶۶±۱/۴۱۴ ^d
طول کلاهدک 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±۰/۰۵ ^b	۱۲۷۰/۶۷۱±۰/۵ ^c	۹۷۹/۷±۰/۸۲ ^d
محیط سلول پارانشیمی (μm)	۱۷۲/۸۸۵±۴۲/۵۰ ^a	۱۵۳/۱۱۶±۱/۶۷ ^b	۱۳۵/۸۶۷±۱۳/۲۶ ^c	۱۰۰/۴۵۲±۳۱/۵۱ ^d
شعاع سلول پارانشیمی (μm)	۲۸/۶۳۶±۶/۷۶ ^a	۲۴/۳۶۹±۰/۳۶ ^b	۲۱/۶۲۳±۲/۱۱ ^c	۱۵/۹۸۹±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±۰/۵۷ ^b	۴/۳۳۳±۰/۵۷۷ ^c	۲/۶۶±۰/۵۷ ^a
ضخامت برگ (μm)	۲۱۹/۳۷۸±۰/۵۷ ^a	۴۶۴/۳۳۰±۷/۵ ^b	۵۳۲/۶۷۶±۲/۵ ^b	۱۹۲/۱۰۶۶±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

(شکل ۳). محدوده مغز با افزایش غلظت کادمیوم توسعه بیشتری پیدا کرد. مقایسه کمی سلول مغز ریشه نشان دهنده سیر افزایشی ابعاد در گیاه تحت تیمار نسبت به شاهد است، به طوری‌که بیشترین میزان مساحت، محیط و شعاع سلول مغز در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار بر لیتر دیده شد ($p < 0/05$) (جدول ۳).

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

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 ($p < 0/05$) (جدول ۳ 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



شکل ۳- برش عرضی از ریشه گیاهچه‌های نیشکر تحت تیمار غلظت‌های مختلف کادمیوم، (A-شاهد)، (B-۱۰۰ میکرومولار CdCl₂، (C-۲۵۰ میکرومولار CdCl₂، (D-۵۰۰ میکرومولار CdCl₂، MV متازایلیم، PV پروتوزایلیم، En آندودرم، Ex اگزودرم، Pi مغز، Ph فلوم، Pr دایره محیطیه، H تارکشنده.

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 و ۲۵۰ میکرومولار دیده نشد ($p < 0.05$) (جدول ۳).

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 کمی 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.

جدول ۳- بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیوم کلرید بر ویژگی‌های تشریحی ریشه گیاه نیشکر واریته cp48-103

	شاهد	۱۰۰ μM CdCl ₂	۲۵۰ μM CdCl ₂	۵۰۰ μM CdCl ₂
مساحت دهانه متازایلیم (μ m ²)	۲۲۹/۵۳±۱۱/۹۲ ^a	۱۱۸۱/۷۵±۵۵/۱۵ ^b	۸۷۴/۳۲±۸۲/۳۷ ^c	۱۷۰/۱۶±۵۱/۳۳ ^c
محیط دهانه متازایلیم (μ m)	۴۱/۹۱±۵/۷۳ ^a	۱۱۹/۵۶±۱۵/۴۳ ^b	۱۰۸/۵۶±۲۵/۵۲ ^b	۱۱۱/۹۰±۱۵/۹۷ ^b
شعاع دهانه متازایلیم (μ m)	۷/۷۹±۰/۹۱۳ ^a	۱۹/۰۲۸±۲/۴۵ ^b	۱۷/۲۷۹±۴/۰۶ ^b	۱۷/۸۳۳±۲/۵۲ ^b
عرض سلول آندودرم (μ m)	۶/۱۹۲±۱/۸۶ ^a	۱۳/۶۱۱±۳/۲۶ ^b	۱۴/۱۴۴±۳/۸۸ ^b	۱۷/۱۱۱۲±۲/۳۱ ^c
مساحت سلول کورتکس (μ m ²)	۲۳۶/۳۸۰±۳/۴۳ ^a	۴۹۷/۶±۷۷/۵۹ ^b	۵۸۴/۵±۲۶/۴۹ ^b	۹۳۱/۳±۱۲۲/۸۲ ^c
محیط سلول کورتکس (μ m)	۳۶/۱۸۲±۰/۰۸۰ ^a	۱۱۴/۴۷۸±۲۴/۳ ^b	۱۱۹/۷۵۲±۷/۷۵ ^b	۱۶۷/۰۰۵±۳/۰۷ ^c
شعاع سلول کورتکس (μ m)	۶/۸۷۹±۰/۰۱۴ ^a	۱۸/۲۱۱±۳/۸۶ ^b	۱۹/۰۵۹±۱/۲۳ ^b	۲۶/۵۲۹±۴/۸۸ ^c
مساحت سلول مغز (μ m ²)	۵۹/۸۴۴±۲/۰۳	۸۹/۷۸±۳/۷ ^b	۲۰/۱۲۸±۸/۶ ^c	۲۲۱/۵±۱/۶ ^c
محیط سلول مغز (μ m)	۱۹/۶۶۰±۲/۵۷ ^a	۳۵/۴۳۲±۳/۷۲ ^b	۵۱/۷۰۴±۵/۶۶ ^c	۵۳/۹۳۴±۱/۰۳ ^c
شعاع سلول مغز (μ m)	۴/۲۵۰±۰/۴۱ ^a	۵/۶۳۹±۰/۵۹ ^a	۸/۲۲۹±۰/۹۰ ^b	۸/۵۸۳±۰/۱۶ ^b
ضخامت کورتکس (μ m)	۶۵/۵۷۱±۰/۷ ^a	۱۳۲/۴۹۸±۷/۰۷ ^b	۶۲/۶۶۳±۰/۷۰۷ ^b	۱۳۷/۴۸۶±۱/۴۱ ^c
ضخامت سلول اگزودرم (μ m)	۶/۷۶۶±۱/۵۳ ^a	۲۸/۹۱۷±۱/۱۶ ^b	۲۸/۱۱۵±۲/۵۴ ^b	۴۱/۶۷۴±۶/۳۶ ^c
مساحت دهانه پروتوزایلیم (μ m ²)	۳۰/۸۲±۰/۵۵ ^a	۸۰/۳۳±۳/۳۸ ^b	۸۷/۶۴±۲/۳ ^b	۱۲۲/۸۳±۲/۴۴ ^c
محیط دهانه پروتوزایلیم (μ m)	۱۹/۶۶۲±۰/۹۷۷ ^a	۳۱/۶۵۱±۳/۳۵۹ ^b	۳۳/۱۲۰±۲/۵۰ ^b	۳۹/۱۵۹±۳/۸۳ ^c
شعاع دهانه پروتوزایلیم (μ m)	۳/۱۲۹±۰/۱۵۵ ^a	۵/۰۳۷±۰/۵۳۴ ^b	۵/۲۷۱±۰/۳۹۸ ^b	۶/۲۳۲±۰/۶۰۹ ^c
مساحت سلول آبکش (μ m ²)	۱۴/۵±۰/۸۸ ^a	۸۷/۶±۱/۸۶ ^b	۸۶/۳±۳/۰۵ ^b	۱۲۲/۱۶±۱/۲۶
محیط سلول آبکش (μ m)	۱۳/۳۵۱±۲/۴۴ ^a	۳۳/۱۴۵±۱/۹۲	۳۲/۸۲۹±۳/۱۶۷ ^b	۳۹/۱۶۷±۱/۱۱ ^c
شعاع سلول آبکش (μ m)	۲/۱۲۴±۰/۳۸۸ ^a	۵/۲۷۵±۰/۳۰۷ ^b	۵/۲۲۴±۰/۵۰۴ ^b	۶/۲۳۳±۰/۱۷۸ ^c

فلزسنگین کادمیوم و همچنین بررسی نقش گیاه نیشکر در گیاه پالایی کادمیوم ضروری بود. در ارتباط با اثر کادمیوم

مطالعه و تحلیل میزان تغییرات تشریحی گیاهچه‌های نیشکر بصورت کمی و جامع برای بررسی دقیق تاثیر

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 بوده است (۶). همچنین فلزات سنگین مثل کادمیوم با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کمپلکس LHCI 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 دیده شد (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

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 شده است 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 برگگی نیز تحت تاثیر این فلز کاهش یافته است، Vassilev و Jordanov 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 برگگی 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 به شدت کاهش می‌دهند (۱۴) و (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 به علت مهار بیوسنتز کلروفیل، احتمالاً به واسطه مهار سنتز آمینولونیک 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 -آمینولونیک اسیددهیدراتاز اثرگذار است و در نهایت منجر به کاهش

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 کاملاً 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.

نتیجه‌گیری

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

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 آگزودرم می‌شود. مطالعات کمی 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 آگزودرمی معمولاً در برابر تنش‌های محیطی نسبت به سلول‌های آندودرمی از حساسیت کمتری برخوردار هستند (۱۲). Vitoria و همکاران در سال ۲۰۰۳-۴ 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 سیلیسیوم 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 کمی 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

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.

سبب ارسال سیگنال‌هایی جهت القای سدهای آپوپلاستی می‌شود. ایجاد سدهای آپوپلاستی مثل چوب پنبه‌ای شدن سلول‌های آندودرمی و آگزودرمی به عنوان مانعی جهت انتقال این فلز سنگین به سلول‌های استلی می‌باشد. علاوه بر این افزایش ضخامت کورتکس ناشی از افزایش ابعاد احتمالا به علت افزایش ذخیره کادمیوم در این سلول‌ها و تشکیل پیوند کادمیوم با دیواره‌های سلولی بوده تا مثل سد مانع عبور آن به بخش‌های داخلی تر شود. کادمیوم به علت وجود سدهای آپوپلاستی قادر به ورود به بخش‌های درونی تر استل نمی‌باشد ولی در هنگام تشکیل ریشه‌های

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 افاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.). مجله زیست‌شناسی ایران، ۷۵۸-۷۴۶: (۴)۲۸.
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 زیست‌شناسی 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 photosynthesis 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 distribution 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, Elliott 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 Denizli (Turkey) by using *Robinia 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.

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 seedling 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. Physiol. 55(1):1-22.
29. Siedlecka A, Krupa Z. 1999. Cd/Zn interaction 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 dialdehyd 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.

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

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

¹ Plant Sciences 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.