

## اثرات برهمکنش کادمیوم و آهن بر رشد، فتوسنتز و فعالیت آنزیم کاتالاز در برنج (*Oryza sativa* L.cv.fajr)

رضانعلی خاوری نژاد، فرزانه نجفی، \*مائده رضائی:  
دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی

### چکیده

اثرات برهمکنش کادمیوم و آهن بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه برنج بررسی شد. گیاهک‌های ۴ روزه به گلدان‌هایی با بستر شنی مرطوب شده با محلول غذایی هوگلدن در شرایط کنترل شده انتقال یافتند. گیاهان ۱۵ روزه تحت تیمار غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند، در حالی‌که به هر یک از محلول‌های فوق، محلول Fe-EDTA با غلظت آهن (۵، ۱۰، ۲۰ پی پی ام) اضافه شد. بعد از ۳۰ روز گیاهان برای سنجش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برداشت شدند. در طی تنش کادمیوم، رشد گیاه برنج کاهش یافت. در تیمارهای کلریدکادمیوم، مقدار رشد نسبی گیاه، میزان ماده‌سازی خالص و شدت فتوسنتز کاهش یافت. یون آهن در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ پی پی ام در شرایط تنش کادمیوم، موجب بهبودی اثرات مضر کادمیوم بر پارامترهای فوق شده بود. در محیط‌های محتوی کادمیوم بدون آهن، شدت تنفس و نقطه جبران CO<sub>2</sub>، افزایش نشان داد، اما در محلول‌هایی که شامل هر دو محلول کلریدکادمیوم و Fe-EDTA بودند، کاهش تنفس و نقطه جبران CO<sub>2</sub> مشاهده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای کلریدکادمیوم، افزایش یافت. با افزایش یون آهن در محلول‌های محتوی کلریدکادمیوم، میزان فعالیت این آنزیم کاهش نشان داد. نتایج نشان داد که با افزایش Fe-EDTA به محیط گیاهان تیمار شده با کلریدکادمیوم، اثرات سمی کادمیوم کاهش می‌یابد.

### مقدمه

سمیت فلزات سنگین نظیر کادمیوم، سرب و مس از مدت‌ها پیش شناخته شده است و به‌خوبی با سند و مدرک به اثبات رسیده است [۱]. این یون‌ها ممکن است به‌طور مستقیم در فعالیت‌های متابولیکی دخالت کنند و این عمل را با تغییر دادن پروتئین‌ها مثل آنزیم‌ها، ناقصین غشایی و پروتئین‌های تنظیم کننده انجام دهند [۲]. برخی از یون‌ها با ویژگی‌های ردوکس شدید مثل مس [۳] و آن‌هایی که فاقد آن هستند مثل کادمیوم [۴]، اکسیداسیون لیپیدهای غشایی را آغاز می‌کنند و تولید انواع اکسیژن فعال را تحریک می‌کنند [۵]، [۶]. کادمیوم یکی از فلزات سنگین غیرضروری است. میزان جذب کادمیوم توسط گیاهان، به غلظت آن در خاک، pH خاک و غلظت دیگر عناصر وابسته است. در فرآیندهای انتقالی از غشاهای گیاهی، کادمیوم با عناصری مثل آهن، منگنز، روی،

واژه‌های کلیدی: برنج، رشد، شدت فتوسنتز، کاتالاز، کادمیوم، گندمیان، فلزات سنگین، سمیت

پذیرش ۹۰/۷/۱۷

دریافت ۸۹/۱۰/۳

mryas162@yahoo.com

\*نویسنده مسئول

مس، کلسیم، منیزیم و پتاسیم رقابت می‌کند [۷]. در سلول‌های گیاهان، کادمیوم ممکن است جانشین روی در فاکتورهای رونویسی انگشت روی شود و یا به جای‌گاه‌های اتصال کلسیم در کالمودولین متصل شود و فرآیندهای انتقال پیام درون سلولی را مختل کند [۸]. آهن محلول غذایی به‌صورت اختصاصی و غیراختصاصی، جذب فلزات سنگین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بدین‌وسیله در سمیت فلزات سنگین مداخله می‌کند. افزایش جذب کادمیوم به‌وسیله ریشه‌های گیاه نخود فرنگی<sup>۱</sup> دارای کمبود آهن بررسی شد و مشخص شد که این مسئله با بیان ژن ناقل  $Fe^{2+}$  (IRT1) مرتبط است [۹]. IRT1 از گیاه آرابیدوپسیس تالیانا<sup>۲</sup> هم‌سازسازی شد و نشان داده شد که با جذب روی و کادمیوم علاوه بر جذب آهن در ارتباط است [۱۰]، به‌طوری‌که تحت کمبود آهن، ژن‌های مرتبط با جذب این عنصر فعال شده و انتقال سایر یون‌های دو ظرفیتی دیگر را تسهیل می‌کند. آلودگی محیط زیست با گسترش روزافزون صنایع، استفاده از فلزات سنگین در صنعت و استفاده از آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی در فعالیت‌های کشاورزی افزایش پیدا کرده است. فلز سنگین کادمیوم باعث آلودگی منابع آب و خاک می‌شود و به‌سادگی به‌وسیله گیاهان جذب و به بخش‌های مختلف گیاهان منتقل می‌شود. در نتیجه به زنجیره غذایی وارد شده و سلامت موجودات زنده را به خطر می‌اندازد [۷]، [۱۱]، [۱۲]. برنج گیاهی از تیره گندمیان<sup>۳</sup> است و از مهم‌ترین غلات و از گیاهان زراعی مهم در قاره آسیاست. با توجه به اهمیت گیاه زراعی برنج و افزایش ضایعات صنعتی و کشاورزی در کشور، این تحقیق انجام شد تا تعامل بین آهن محلول غذایی و سمیت کادمیوم را با تأکید بر برخی پارامترهای زیر در این گیاه روشن سازد. برهمکنش بین آهن و کادمیوم با استفاده از پارامترهای رشد، شدت فتوسنتز، تنفس، نقطه جبران  $CO_2$  و فعالیت آنزیم کاتالاز، بررسی گردید.

## مواد و روش‌ها

### رشد گیاه

بذر برنج از مرکز تحقیقات برنج کشور واقع در شهرستان آمل تهیه شد. پس از بررسی میزان جوانه‌زنی چهار رقم برنج شامل فجر، طارم محلی، ندا و خزر در محیط آزمایشگاه، بذرها را گیاه برنج رقم فجر<sup>۴</sup> به دلیل جوانه زنی بهتر انتخاب شد. بذرها برای جلوگیری از آلودگی قارچی، توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس بذرها چندین بار با آب مقطر شسته شدند. پس از این مرحله در داخل هر پتری‌دیش استریل حاوی یک لایه کاغذ صافی، ۲۰ عدد بذر قرار داده شد و در داخل آون در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفتند. بعد از جوانه‌زنی بذرها، گیاهک‌های ۴ روزه به گلدان‌های حاوی ماسه مرطوب شده منتقل شدند و در طی دوره رشد، با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. گیاهان ۱۵ روزه تحت تیمار غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم (۰، ۵۰، و ۱۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند، درحالی‌که به هریک از محلول‌های فوق، محلول Fe-EDTA با غلظت آهن (۵، ۱۰، و ۲۰ پی پی ام) اضافه شد. با توجه به بررسی‌های انجام شده

۱. *Pisum sativum*

۲. *Arabidopsis thaliana*

۳. Poacea

۴. *Oryza sativa* L. cv. fajr

توسط محققان [۴]، [۱۲]، [۱۳]، در خصوص تنش‌های ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف کادمیوم در گیاهان، در این تحقیق غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم انتخاب شدند که به ترتیب سمیت متوسط و سمیت زیادی را برای گیاه برنج ایجاد کردند. مجموعاً ۹ تیمار با ۴ تکرار در نظر گرفته شد. جوانه‌های برنج در گلدان‌هایی با بستر شنی مرطوب شده با محلول غذایی هوگلدن، در شرایط کنترل شده، ۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی، شدت نور ۶۰ وات بر مترمربع، درجه حرارت ۲۵°C در روز و ۱۸°C در شب رشد کردند. pH در تمام محلول‌های غذایی تهیه شده در حد ۵/۸ تنظیم گردید و هفته‌ای دوبار گلدان‌ها با محلول غذایی آبیاری شدند. گیاهان تحت محیط کنترل شده در گل‌خانه به مدت ۳۰ روز تحت تیمار قرار گرفتند. سپس ۴ گیاه از هر تیمار برای سنجش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برداشت شدند.

### آنالیز رشد

بهم‌نظور انجام آنالیز رشد، از روش واتسون<sup>۱</sup>، ایوانز<sup>۲</sup> و هوگست<sup>۳</sup> [۱۴]، [۱۵] استفاده شد. وزن تر اندام هوایی (برگ و ساقه)، ریشه و سطح برگ هر یک از گیاهان تحت تیمار بلافاصله پس از برداشت اندازه‌گیری شد و وزن خشک، بعد از آن که نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادلات مربوطه، میزان رشد نسبی<sup>۴</sup> و میزان ماده‌سازی خالص<sup>۵</sup> اندازه‌گیری شد.

### آنالیز گازی

برای سنجش میزان فتوسنتز، سنجش تنفس در تاریکی و محاسبه نقطه جبران CO<sub>2</sub> فتوسنتزی از روش خاوری‌نژاد [۱۶]، [۱۷] استفاده شد. برای انجام این سنجش‌ها از دستگاه آنالیزور گازی CO<sub>2</sub> فروسرخ<sup>۶</sup> یا ایرگا<sup>۷</sup> استفاده شد.

### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

بهم‌نظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش پریرا<sup>۸</sup> و همکاران [۱۸] استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر تریس ۵۰ میلی‌مولار و آب‌اکسیژنه ۲۵ میلی‌مولار بود. فرآیند با افزودن ۳۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر آغاز گردید. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه انجام شد. میزان فعالیت آنزیم، برحسب تغییرات جذب در یک دقیقه در واحد وزن تر برگ ( $\Delta OD \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ f.w.}$ ) بیان شده است.

### آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها (ANOVA) در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

۱. Watson	۲. Evans	۳. Hughes	۴. Relative Growth Rate (RGR)
۵. Net Assimilation Rate (NAR)	۶. Infrared gas (CO <sub>2</sub> ) analyzer	۷. IRGA	۸. Pereira

### نتایج

نتایج مربوط به میزان رشد نسبی گیاه و میزان ماده‌سازی خالص در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. در تیمارهای کلرید کادمیوم، میزان رشد نسبی گیاه و میزان ماده‌سازی خالص در هر دو سطح کادمیوم، کاهش یافت. این کاهش در سطح ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم معنی‌دار بود که نشان‌دهنده رشد ضعیف گیاه است. یون آهن در هر دو غلظت ۱۰ و ۲۰ پی‌پی‌ام در شرایط تنش کادمیوم، موجب بهبود اثرات مضر کادمیوم بر میزان رشد نسبی گیاه و میزان ماده‌سازی خالص شده بود که نسبت به تیمارهای کادمیوم معنی‌دار نیست.

جدول ۱. تأثیر متقابل کلرید کادمیوم و آهن بر میزان رشد نسبی گیاه ( $\text{g kg}^{-1}\text{d}^{-1}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	Fe (ppm)		
	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۳۱/۴۹۸ ± ۲/۲۲۴ a †	۲۳/۸۱۹ ± ۲/۹۱۸ ab	۲۱/۵۳۶ ± ۴/۰۵۶ b
۱۰	۳۲/۵۰۹ ± ۲/۲۱۹ a	۲۴/۷۹۵ ± ۲/۴۷۵ ab	۲۳/۳۸۰ ± ۱/۱۶۰ ab
۲۰	۲۹/۴۴۶ ± ۱/۶۶۱ ab	۲۷/۳۷۶ ± ۳/۲۵۸ ab	۲۵/۰۸۹ ± ۳/۱۷۳ ab

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هر ستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار<sup>۱</sup> برای ۴ تکرار

جدول ۲. تأثیر متقابل کلرید کادمیوم و آهن بر میزان ماده‌سازی خالص ( $\text{g m}^{-2}\text{d}^{-1}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	Fe (ppm)		
	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۱/۱۴۷ ± ۰/۰۹۳ a †	۰/۹۴۸ ± ۰/۱۳۹ ab	۰/۷۵۳ ± ۰/۰۴۴ b
۱۰	۱/۱۵۳ ± ۰/۱۳۲ a	۱/۰۲۹ ± ۰/۱۱۸ ab	۰/۸۷۴ ± ۰/۰۹۸ ab
۲۰	۱/۰۷۸ ± ۰/۰۷۷ ab	۱/۰۸۸ ± ۰/۱۵۴ ab	۰/۹۵۱ ± ۰/۱۰۴ ab

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هر ستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار برای ۴ تکرار.

نتایج مربوط به فتوسنتز در جدول ۳ نشان داده شده است. کادمیوم موجب کاهش مقدار فتوسنتز گردید که این کاهش در هر دو سطح کلرید کادمیوم نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. یون آهن در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش مقدار فتوسنتز گردید که نسبت به شاهد معنی‌دار نیست ولی در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش این پارامتر شد که نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. در شرایط تنش کادمیوم افزودن آهن موجب افزایش معنی‌دار شدت فتوسنتز گردید.

جدول ۳. تأثیر متقابل کلرید کادمیوم و آهن بر شدت فتوسنتز ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	Fe (ppm)		
	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۱/۰۳۱ ± ۰/۰۵۹ a †	۰/۷۶۹ ± ۰/۰۱۹ d	۰/۴۸۱ ± ۰/۰۳۱ f
۱۰	۱/۰۳۶ ± ۰/۰۵۳ a	۰/۸۰۷ ± ۰/۰۱۳ cd	۰/۵۸۶ ± ۰/۰۲۰ e
۲۰	۰/۹۰۳ ± ۰/۰۳۱ bc	۰/۹۵۵ ± ۰/۰۲۷ ab	۰/۷۸۵ ± ۰/۰۲۷ d

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هر ستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار برای ۴ تکرار.

۱. Standard Error of the Mean (SE)

نتایج مربوط به شدت تنفس در تیمارهای مختلف در جدول ۴ نشان داده شده است. کادمیوم موجب افزایش شدت تنفس گردید که در هر دو سطح کلرید کادمیوم نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. آهن در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش و در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش شدت تنفس گردید که نسبت به شاهد معنی‌دار نیستند. در شرایط تنش کادمیوم، آهن شدت تنفس را تعدیل کرد و موجب کاهش آن نسبت به تیمارهای کادمیوم شد. کاهش شدت تنفس در نتیجه حضور آهن در تیمار ۵۰ میکرومولار کادمیوم نسبت به تیمار پایین کادمیوم، معنی‌دار نیست.

جدول ۴. تأثیر متقابل کلرید کادمیوم و آهن بر شدت تنفس ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	Fe (ppm)		
	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۰/۱۰۸ ± ۰/۰۷۲ d †	۰/۲۶۵ ± ۰/۰۲۴۴ c	۰/۴۲۰ ± ۰/۰۲۳۰ a
۱۰	۰/۱۰۷ ± ۰/۰۶۴ d	۰/۲۲۵ ± ۰/۰۱۸۸ c	۰/۳۶۲ ± ۰/۰۲۳۵ b
۲۰	۰/۱۵۱ ± ۰/۰۱۷۸ d	۰/۲۱۸ ± ۰/۰۱۵۵ c	۰/۲۶۱ ± ۰/۰۲۳۳ c

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هر ستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار برای ۴ تکرار.

کادمیوم موجب افزایش نقطه جبران CO<sub>2</sub> فتوسنتزی گردید که در جدول ۵ نشان داده شده است. آهن در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش و در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام موجب افزایش نقطه جبران CO<sub>2</sub> گردید که افزایش آن نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. کادمیوم در هر دو سطح موجب افزایش نقطه جبران CO<sub>2</sub> گردید که نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. آهن در شرایط تنش کادمیوم موجب کاهش اثر کادمیوم گردید. کاهش نقطه جبران CO<sub>2</sub> در حضور هر دو غلظت آهن در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کادمیوم، نسبت به تیمار بالای کادمیوم معنی‌دار است. آهن در غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام در شرایط تنش پایین کادمیوم موجب کاهش معنی‌دار نسبت به تیمار پایین کادمیوم شد که این کاهش در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام معنی‌دار نیست.

جدول ۵. تأثیر متقابل کلرید کادمیوم و آهن بر نقطه جبران CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{l l}^{-1}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	Fe (ppm)		
	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۱۶۰/۶۴ ± ۸/۳۸ d †	۲۵۰/۶۸ ± ۱۹/۶۲ b	۲۹۹/۷۵ ± ۹/۶۴ a
۱۰	۱۵۴/۳۶ ± ۶/۰۹ d	۲۴۲/۵۴ ± ۱۶/۵۳ b	۲۵۳/۶۹ ± ۶/۷۹ b
۲۰	۱۹۵/۲۸ ± ۱۰/۴ c	۱۹۶/۵۱ ± ۱۳/۰ c	۲۵۰/۵۷ ± ۴/۳۷ b

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هر ستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار برای ۴ تکرار.

مقادیر مربوط به فعالیت آنزیم کاتالاز در جدول ۶ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو غلظت کلرید کادمیوم افزایش یافت که نسبت به گیاهان شاهد معنی‌دار است. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم نسبت به تیمار ۵۰ میکرومولار کاهش نشان داد. یون آهن موجب افزایش فعالیت

آنزیم کاتالاز شد. در نتیجه حضور یون آهن در محیط کشت گیاهان تحت تیمارهای کلریدکادمیوم، فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش نشان داد.

جدول ۶. تأثیر متقابل کلریدکادمیوم و آهن بر فعالیت آنزیم کاتالاز ( $\Delta OD \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ f.w.}$ )

CdCl <sub>2</sub> (μM)	۰	۵۰	۱۰۰
۵	۰/۰۳۱۱ ± ۰/۰۰۳۳ c †	۰/۱۹۲۱ ± ۰/۰۱۶۸ a	۰/۱۶۴۰ ± ۰/۰۴۴۴ a
۱۰	۰/۰۴۰۶ ± ۰/۰۰۷۹ c	۰/۱۷۸۹ ± ۰/۰۲۹۲ a	۰/۱۱۹۵ ± ۰/۰۱۶۲ ab
۲۰	۰/۰۶۲۵ ± ۰/۰۰۸۳ bc	۰/۱۲۷۰ ± ۰/۰۲۴۱ ab	۰/۱۴۹۰ ± ۰/۰۳۶۸ a

† وجود حروف مشترک در میانگین‌های هرستون به معنای عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است. اعداد نشان داده شده عبارتند از میانگین ± انحراف معیار برای ۴ تکرار.

### بحث

تحقیق و پژوهش حاضر قصد داشت تا برهمکنش کادمیوم و آهن و پاسخ گیاه برنج را تحت این تنش بررسی کند. فلز سنگین کادمیوم که کاتیونی دوظرفیتی است، از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌های محیطی محسوب می‌شود [۸]، [۱۲]، [۱۹]. ویژگی‌های شیمیایی کادمیوم و آهن با یکدیگر متفاوت است و مسیرهای سم‌زدایی سلولی آن‌ها، عمدتاً مجزا است [۱]. کادمیوم و آهن تا حدی بر روی مکانیسم‌های بیوشیمیایی مشابه تأثیر می‌گذارند و موجب به وجود آمدن پاسخ‌های هم‌راستا می‌شوند که با نتایج ما در این تحقیق مطابقت دارد. کلریدکادمیوم موجب کاهش رشد گیاهان و کاهش سطح برگ می‌گردد [۱۲]، [۱۹]. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان رشد نسبی گیاه در تیمارهای کلریدکادمیوم کاهش یافت. همچنین در تیمارهای کلریدکادمیوم میزان ماده‌سازی خالص هم کاهش یافت که به‌دلایل کاهش مقدار فتوسنتز، کاهش در توانایی به‌کارگیری محصولات فتوسنتزی برای رشد و افزایش استفاده از محصولات فتوسنتزی در تنفس است. کادمیوم تعادل هورمونی را مختل می‌کند و مانع رشد ریشه‌ها می‌شود [۱۲]، [۲۰]. اثرات سمیت کادمیوم در کاهش رشد بخش‌های هوایی گیاهان، با جلوگیری از عمل فتوسنتز از طریق اثر روی متابولیسم کلروفیل، فعالیت فتوسیستم‌ها و آنزیم‌های چرخه احیایی کربن فتوسنتزی مرتبط است. همچنین کادمیوم از طریق آسیب به لیپیدهای غشایی، عمل‌کرد غشای سلول را تغییر می‌دهد و این مسئله می‌تواند فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با غشا مانند  $H^+$ -ATPase را تحت تأثیر قرار دهد [۱۲]. کادمیوم بر جذب و انتقال عناصری مانند کلسیم، منیزیم، آهن، منگنز و روی اثر می‌گذارد و سبب کاهش رشد گیاهان می‌شود [۱۳]. در سطح سلولی، کادمیوم با کاهش قابلیت ارتجاع دیواره سلولی سبب کاهش فشار تورگور شده و مانع رشد سلول‌ها می‌شود [۱۳]، [۲۰]. در این تحقیق، آهن در شرایط تنش کلریدکادمیوم، تأثیر مثبت بر پارامترهای رشد و میزان فتوسنتز داشته است. افزایش تنفس تحت تنش کادمیوم در گیاه سویا گزارش شده است [۲۱]. افزایش تنفس مربوط به بیش‌تر شدن شدت گلیکولیز تحت تنش کلرید کادمیوم است [۲۲]. البته تأثیر کادمیوم روی میزان تنفس، بستگی به درجه تنش فلز دارد. تنش فلزی ملایم، میزان تنفس را افزایش می‌دهد که با

نتایج ما مطابقت دارد. در حالی که تنفس تحت تنش فلزی شدید، کاهش می‌یابد که یک نوع آسیب متابولیکی را نشان می‌دهد. همچنین بررسی‌ها با سلول‌های کشت تعلیقی نشان داد که فلزات سنگین در غلظت‌های بیش‌تر به ساختارهای میتوکندریایی آسیب می‌رسانند و در نتیجه تنفس را کاهش می‌دهند که با نتایج ما مطابقت ندارد. فسفوریل‌اسیون اکسیداتیو میتوکندریایی، به وسیله کادمیوم مهار می‌شود که به‌منظر می‌رسد این عمل از طریق تغییر نفوذپذیری غشای درونی میتوکندری به پروتون‌ها صورت می‌گیرد [۲۲]، [۲۳]. در این تحقیق آهن در شرایط تنش کلریدکادمیوم شدت تنفس را کاهش داده است. گزارش‌ها حاکی از افزایش نقطه جبران  $CO_2$  فتوسنتزی در شرایط تنش فلز سنگین و پیری هستند [۲۴]، [۲۵] که با نتایج ما در این تحقیق مطابقت دارد. علت افزایش نقطه جبران  $CO_2$  فتوسنتزی را باید در فتوسنتز و تنفس جستجو کرد. کاهش فتوسنتز و افزایش تنفس دلایل عمده افزایش نقطه جبران  $CO_2$  است [۲۴]. همچنین افزایش نقطه جبران  $CO_2$  در حضور آهن را می‌توان به افزایش هر چه بیش‌تر تنفس در این تیمارها ربط داد. در این تحقیق فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای کلریدکادمیوم افزایش یافت. یون آهن در شرایط کنترل شده موجب افزایش فعالیت این آنزیم گردید. با افزایش یون آهن در محلول‌های محتوی کلریدکادمیوم میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت. تنش فلزات سنگین، سبب افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها شده و تولید انواع اکسیژن‌های فعال را تحریک می‌کند [۵]، [۲۶]. انواع اکسیژن‌های فعال شامل رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن است که به بیومولکول‌ها مثل لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رسانند [۶]. برای کم کردن و از بین بردن انواع اکسیژن‌های فعال و اجتناب از آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد [۴]، [۲۷]، [۲۸] که افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد. با افزایش فعالیت کاتالاز، مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن در داخل سلول‌ها از بین می‌رود. محققان گزارش دادند که سمیت کادمیوم در برگ‌های گیاه برنج به وسیله کلاتور فلزی 2,2'-bipyridine کاهش می‌یابد که این مسئله با کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط است [۲۶]. افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهانی نیز که در معرض غلظت‌های سمی فلزاتی مانند مس، روی و سرب هستند گزارش شده است [۳]. کاهش در فعالیت کاتالاز نیز به‌عنوان یک پاسخ عمومی در بسیاری از تنش‌های شدیدتر محیطی مانند شوری، خشکی، سرما و تنش فلزات سنگین گزارش شده است که این امر احتمالاً به‌علت بازدارندگی از سنتز آنزیم یا تغییر در تجمع زیر واحدهای این آنزیم است [۶]. در این تحقیق فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم نسبت به تیمار ۵۰ میکرومولار کاهش نشان داد. در غلظت بالای آهن، رادیکال هیدروکسیل تولید می‌شود که به‌عنوان علامتی برای افزایش فعالیت کاتالاز عمل می‌کند. آهن مازاد سلول‌ها، به علت توانایی‌اش برای ایجاد تنش اکسیداتیو شدید، سمی است. البته این زمانی است که مکانیسم‌های هموستاتیک آهن سلولی از کار انداخته شوند. هموستازی آهن سلولی شدیداً به ذخیره‌سازی آهن در مولکول‌های خاص و به توزیع مؤثر درون سلولی آهن اضافی تکیه می‌کند. نقش فریتین<sup>۱</sup> در ذخیره‌سازی محتوای آهن اضافی به اثبات

۱. ferritin

رسیده است [۱]. این تحقیق نشان داد که با افزایش Fe-EDTA به محیط گیاهان تیمار شده با کلریدکادمیوم، اثرات سمی کادمیوم کاهش می‌یابد. حضور آهن در شرایط تنش کلریدکادمیوم، مؤلفه‌های رشد و شدت فتوسنتز را که کادمیوم موجب کاهش آن‌ها شده بود، افزایش داد. همچنین یون آهن شدت تنفس و نقطه جبران  $CO_2$  را که تحت تأثیر کادمیوم افزایش یافتند، بهبود داد و موجب کاهش آن‌ها گردید. آهن به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و پراکسیداز در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدان سلول‌ها نقش دارد [۶]. آهن محلول غذایی، جذب فلزات سنگین دیگر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بدین‌وسیله در سمیت فلزات سنگین مداخله می‌کند. در نتیجه حضور آهن با کاهش جذب کادمیوم، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد. برهمکنش کادمیوم و فلزاتی مانند آهن، روی، مس و منگنز در گیاهان ذرت، گندم، جو و گوجه‌فرنگی گزارش شده است. تفاوت در میان گونه‌ها و واریته‌ها و تناقض بین نتایج در آزمایش‌ها دیده می‌شود [۷]، [۲۹]. لامبی و همکاران [۳۰] گزارش کردند که گونه‌های مختلف یک گیاه با کمبود آهن از نظر جذب کادمیوم متفاوت عمل می‌کنند. برخی محققان برهمکنش سینرژیک بین کادمیوم و روی را گزارش دادند، در حالی‌که برخی دیگر برهمکنش آنتاگونیستی بین کادمیوم و فلزاتی مانند آهن، مس، منگنز و روی را مطرح کردند [۷]، [۳۱]، [۳۲]. برهمکنش عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان با عناصر سنگین می‌تواند بر میزان جذب این عناصر توسط گیاهان مؤثر باشد. اثرات آنتاگونیستی بین کادمیوم و آهن به‌طور گسترده با کاهش جذب کادمیوم و انتقال و توزیع آن در گیاه مرتبط است [۱]. فلز سنگین کادمیوم احتمالاً به‌وسیله رقابت با آهن، از جذب آن جلوگیری می‌کند؛ در نتیجه گیاه دچار کمبود آهن می‌شود. تحت کمبود آهن، گیاهان گرامینه، با بیان ژن *ZmYS1*، فیتوسیدروفورها را آزاد می‌کنند که تمایل زیادی برای کمپلکس شدن با Fe (III) را دارند [۳۳]. کلات شدن فلز در خاک مختص Fe (III) نیست، زیرا فیتوسیدروفورهایی پیدا شدند که تعدادی از فلزات شامل روی، مس، منگنز، نیکل و کادمیوم را حرکت می‌دهند. در حضور کادمیوم، نسبت آزاد شدن فیتوسیدروفور، ۷ برابر بیشتر است. تشکیل کمپلکس فیتوسیدروفور- کادمیوم از نظر فیزیولوژیکی در خاک زمانی که کاتیون‌های دو ظرفیتی دیگر یا پروتون‌ها حضور دارند قابل قبول نیست و حضور فلزات دیگر منجر به بی‌ثباتی کمپلکس فیتوسیدروفور- کادمیوم می‌شود. تشکیل یک کمپلکس سست و کم دوام به‌عنوان علت اصلی ناکارآمدی فیتوسیدروفور در حرکت کادمیوم تشخیص داده شده است. البته با وجود ناتوانی کادمیوم در رقابت با Fe (III)، کادمیوم سرعت جذب کمپلکس فیتوسیدروفور- آهن را کاهش می‌دهد [۳۳]. بنا بر این تشکیل کمپلکس فیتوسیدروفور- آهن و تشکیل نشدن این کمپلکس با کادمیوم در حضور آهن، تا حدودی ریشه‌های گیاهان گرامینه را از سمیت کادمیوم محافظت می‌کند.

## منابع

1. S. S. Sharma, S. Kaul, A. Metwally, K. C. Goyal, I. Finkemeier and K. J. Dietz, "Cadmium toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) as affected by varying Fe nutritional status", *Plant Science*, 166 (2004) 1287-1295.
2. F. Van Assche, H. Clijsters, "Effects of metals on enzyme activity in plants", *Plant Cell and Environment*, 13 (1990) 195-206.
3. J. E. J. Weckx, H. M. M. Clijsters, "Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* as a result of root assimilation of toxic amounts of copper", *Physiologia Plantarum*, 96 (1996) 506-512.
4. K. Smeets, J. Ruytinx, B. Semane, F. V. Belleghem, T. Remans, S. V. Sanden, J. Vangronsveld, A. Cuypers, "Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress", *Environmental and Experimental Botany* (2007) 1-8.
5. B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, "Free Radicals in Biology and Medicine, Clarendon Press", Oxford (1993).
6. K. Shah, R. G. Kumar, S. Verma, R. S. Dubey, "Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings", *Plant Science*, 161 (2001) 1135-1144.
7. J. Liu, K. Li, J. Xu, J. Liang, X. Lu, J. Yang, Q. Zhu, "Interaction of Cd and five mineral nutrients for uptake and accumulation in different rice cultivars and genotypes", *Field Crops Research*, 83 (2003) 271-281.
8. A. Rivetta, N. Negrini, M. Cocucci, "Involvement of Ca<sup>2+</sup>-calmodulin in Cd<sup>2+</sup> toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination, *Plant*", *cell and Environment*, 20 (1997) 600-608.
9. C. K. Cohen, I.C. Fox, D. F. Garevin, L.V. Kochian, "The Role of iron-deficiency stress responses in stimulating heavy-metal transport in plants", *Plant Physiology*, 116 (1998) 1063-1072.

10. G. Vert, N. Groz, F. Dedaldechamp, F. Gaymard, M. L. Guerinot, J. F. Briat, C. Curie, "IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth", *Plant Cell*, 14 (2002) 1223-1233.
11. J. G. Liu, J. S. Liang, K. Q. Li, Z. J. Zhang, B.Y. Yu, X. L. Lu, J. C. Yang, Q. S. Zhu, "Correlations between cadmium and mineral nutrients in absorption and accumulation in various genotypes of rice under cadmium stress", *Chemosphere*, 52 (2003) 1467-1473.
12. I. Mccarthy, M. C. Romero-Puertas, J. M. Palma, L. M. Sandalio, F. J. Corpas, M. Gomez, L. A. Del rio, "Cadmium induces senescence symptoms in leaf peroxisomes of pea plants", *Plant, Cell and Environment*, 24 (2001) 1065-1073.
13. R. Aina, M. Labra, P. Fumagalli, C.Vannini, M. Marsoni, U. Cucchi, M. Bracale, S. Sgorbati, S. Citterio, "Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots", *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2007) 381-392.
14. D. J. Watson, "The physiological basis of variation in yield", *Adv. Agron*, 4 (1952) 101-145.
15. G. C. Evans, A. P. Hughes, "Plant growth and the aerial environment III on the computation of unit leaf rate", *New Phytologist*, 61 (1962) 322-327.
16. R. A. Khavari-Nejad, "Growth of tomato plants in different oxygen concentration", *Photosynthetica*, 14(3) (1980) 326-336.
17. R. A. Khavari-Nejad, "Carbon dioxide enrichment preconditioning effects on chlorophylls contents and photosynthetic efficiency in tomato plants", *Photosynthetica*, 20(3) (1986) 315-317.
18. G. J. G. Pereira, S. M. G. Molina, P. J. Lea, R. A. Azevedo, "Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*", *Plant and Soil*, 239 (2002) 123-132.
19. M. J. Hassan, Z. Zhu, B. Ahmad, Q. Mahmood, "Influence of cadmium toxicity on rice genotypes as affected by zinc", sulfur and nitrogen fertilizers, *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 4 (2006) 1-8.

20. J. Barcelo, C. Poschenrieder, "Plant water relations as affected by heavy metals: a review", *Journal of Plant Nutrition*, 13 (1990) 1-37.
21. K. C. Lee, B. A. Cunningham, G. M. Paulsen, G. H. Liang, R. B. Moore, "Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings", *Physiologia Plantarum*, 36 (1976) 4-6.
22. M. N. V. Prasad, J. Hagemeyer, "Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems", Springer, Berlin and New York (1999).
23. A. Kessler, M. D. Brand, "The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria", *Plant Physiology and Biochemistry*, 33 (1995) 519-528.
24. E. W. Smith, N. E. Tolbert, H. S. Ku, "Variables affecting the CO<sub>2</sub> compensation point", *Plant Physiology*, 58(2) (1976) 143-146.
25. M. Greger, G. Bertell, "Effects of Ca<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> on the carbohydrate metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris*)", *Journal of Experimental Botany*, 43 (1992) 167-173.
26. C. H. Fang, W. J. Wu, C. C. Lin and C. H. Kao, "Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation", *Plant Growth Regulation*, 33 (2001) 205-213.
27. K. V. S. K. Prasad, P. P. Saradhi, P. Sharmila, "Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*", *Environmental and Experimental Botany*, 42 (1999) 1-10.
28. S. Sinha, R. Saxena, "Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L.", *Chemosphere*, 62 (2006) 1340-1350.
29. A. P. Pinto, A. M. Mota, A. D. Varennes, F. C. Pinto, "Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants", *Science of the Total Environment*, 326 (2004) 239-247.
30. E. Lombi, K. L. Tearall, J. R. Howarth, F. J. Zhao, M. J. Hawkesford, S. P. McGrath, "Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyper accumulator *Thlaspi caerulescens*", *Plant Physiology*, 28 (2002) 1432-1440.

31. D. A. Cataldo, T. R. Garland, R. E. Wildung, "Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants", *Plant Physiology*, 73 (1983) 844-848.
32. G. C. Smith, E. G. Brennan, "Cadmium-zinc interactionship in tomato plants", *Phytopathology*, 73 (1983) 879-882.
33. A. R. Meda, E. B. Scheuermann, U. E. Prechsl, B. Erenoglu, G. Schaaf, H. Hayen, G. Weber, N. V. Wiren, "Iron acquisition by phytosiderophores contributes to cadmium tolerance", *Plant Physiology*, 143 (2007) 1761-1773.