اثرات غلظت کادمیوم در آب آبیاری بر عملکرد و برخی صفات رشدی و مرفولوژیکی گیاه فلفل (*capsicum. Frutescens*)

لیلا شکاری، محمدمجتبی کامل منش[1] و فرشاد صادقی

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران؛ **parisa.shekari63@yahoo.com**

استادیار گروه ژنتیک و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز ، ایران؛ **kamelmanesh2000@yahoo.com**

استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران؛ **fs1351@yahoo.com**

دریافت: **92/8/15** و پذیرش: **93/5/21**

چکیده

کادمیوم یک عنصر سنگین و بسیار سمی می‌باشد که جزء مهمترین آلاینده‌های محیطی و صنعتی طبقه‌بندی شده و در بین عناصر سنگین به دلیل تحرک بالا، حلالیت زیاد و سمیت بیش از حد، مورد توجه خاص قرار گرفته است. به منظور بررسی اثر سمیت کادمیوم بر گیاه فلفل، آزمایشی گلخانه‌ای شامل سه سطح کادمیوم (صفر، 0/25 و 0/5 میلی مولار به صورت کلرید کادمیوم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که مصرف کادمیوم اثر منفی بر روی عملکرد و برخی شاخص‌های مرفولوژیکی گیاه فلفل داشت، به طوری که افزودن 0/5 میلی‌مولار کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار ($p< 0.05$) در حجم ریشه، طول ریشه، تعداد برگ، وزن‌تر و خشک اندام هوایی، وزن‌تر ریشه، تعداد میوه و وزن خشک میوه به ترتیب به میزان 45/8، 12/2، 18/48، 38، 15/3، 20/7، 55/32، 34/08 درصد، نسبت به تیمار شاهد گردید. تعیین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز نشان داد که افزایش سطوح کادمیوم بر میزان رنگیزه‌های کلروفیلی مؤثر بوده به نحوی که در تیمار 0/5 میلی مولار کادمیوم باعث کاهش معنی‌دار ($p<0.05$) کلروفیلa ، b و کلروفیل کل به میزان 26/5، 34/7، 18/19 درصد نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین نتایج تجزیه واریانس کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب بافت گیاه تحت تأثیر سمیت کادمیوم را نشان داد به طوری که این شاخص به میزان 14/5 درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت ولی بین دو سطح تیمار کادمیوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p< 0.05$). با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، در کل سمیت کادمیوم باعث آسیب به ساختار گیاه، تأثیر منفی بر فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه و همچنین کاهش عملکرد میوه در هر بوته شد ولی برای تعیین دقیق تر تأثیرکادمیوم بر رشد و عملکرد گیاه اندازه‌گیری میزان این عنصر در بافت میوه در تحقیقات بعدی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کادمیوم، شاخص‌های مورفولوژیک، محتوای نسبی آب بافت، شاخص پایداری غشاء سلولی، فلفل

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: شیراز، پردیس دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی،گروه علوم باغبانی

مقدمه

فلزات سنگین از مهمترین منابع آلاینده محیط‌زیست از جمله خاک هستند که در صورت تجمع در خاک علاوه بر آثار زیانبخش بر اکوسیستم خاکی، با آلوده کردن آبهای زیر زمینی و همچنین جذب از طریق گیاهان، وارد زنجیره غذایی انسان و سایر موجودات زنده می‌شوند (انتونیادیس و آلووی، 2001). در بین فلزات سنگین، کادمیوم به علت تحرک و پویایی زیاد در خاک، حلالیت بالا در آب، سمیت زیاد (2 تا 20 برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین) و نیمه عمر بیولوژیکی طولانی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (موشکار، 2007). در طبقه‌بندی آژانس بین المللی تحقیقات سرطانزای انسانی(IARC[1]) این عنصر در لیست مهمترین آلاینده‌های محیطی و صنعتی قرار دارد (لیو و همکاران، 2009). کادمیوم علاوه بر بالا بردن احتمال سرطان باعث بروز عوارضی از جمله آسیب به سیستم مغزی، تولید مثلی و گردش خون، نارسایی‌های کبد و کلیه، بیماری های قلبی- عروقی، استخوانی و ریوی در انسان می‌گردد (موشکار، 2007).

وسعت زیادی از خاک‌های کشاورزی جهان به غلظت‌های کم تا متوسط کادمیوم آلوده شده‌اند که مهمترین دلایل این آلودگی کاربرد غیر اصولی کودهای شیمیایی کشاورزی به ویژه کودهای فسفره و استفاده از لجن‌های فاضلاب است (واسیلو و همکاران، 2002). نتایج حاصله از برخی تحقیقات به عمل آمده در کشور ما نیز نشان دهنده ورود و انباشت بیش از حد مجاز عنصرکادمیوم در اثر مصرف بیش از حد کودهای فسفاته در خاک های زراعی در طی سال‌های متمادی است. طبق بررسی‌های انجام شده غلظت کادمیوم خاک‌های اراضی کشاورزی در برخی مناطق کشور در محدوده بحرانی قرار داشته و این مطلب بیانگر افزایش دراز مدت و تدریجی غلظت کادمیوم در خاک‌های زراعی در اثر استفاده از کودهای فسفاته با غلظت کادمیوم فراتر از حد مجاز و آلودگی خاک‌ها به عنصر کادمیوم است همچنین براساس آمار، درصد کمی از فاضلاب‌های صنعتی و خانگی در کشور تصفیه شده و بخش عمده فاضلاب‌های خانگی و صنعتی کشور بدون تصفیه و به‌صورت خام وارد محیط‌زیست می‌شود که این روند، آلودگی خاک و آب‌های زیرزمینی را در پی دارد (رحمانی، 1377).

عنصر سمی کادمیوم اگرچه برای گیاه ضروری نیست اما به آسانی از طریق سیستم ریشه‌ای جذب و از راه سیمپلاستی و آپوپلاستی وارد بافت گیاهی می‌شود (سانیتا و گابریلی، 1999) و اغلب در واکوئل سلول تجمع می‌یابد.

آثار مخرب کادمیوم در اثر افزایش این عنصر به محیط رشد گیاه به اشکال گوناگونی گزارش شده است ولی به طور کلی تأثیر این عنصر بر رشد، ویژگی‌های رشدی و مورفولوژی گیاه به عنوان مهمترین و قابل مشاهده ترین علائم برای سمیت آن مطرح می‌شود. تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی و در سطح سلولی سمی بوده و سبب اختلال در تقسیم و رشد سلول‌ها، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و کاهش رشد و نمو گیاه می‌گردد (بالستراس و همکاران، 2001). این عنصر با ایجاد اختلال در متابولیسم نیتروژن از طریق مهار فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر گلوتامین سینتتاز، گلوتامات سینتتاز و نیترات ردوکتاز و همچنین فرایند احیا نیترات سبب کاهش تولید پروتئین شده و رشد را متوقف می‌کند (زانگ و همکاران،2002).

همچنین با مهار فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین از جمله روبیسکو و زنجیره انتقال الکترون و آسیب به سلول‌های روزنه‌ای، باعث کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد (وانگ و همکاران، 2008). گزارشاتی در مورد تأثیر کادمیوم بر رنگیزه‌ها و کلروفیل برگ وجود دارد (زانگ و همکاران،2002 ؛ وسیلو و همکاران، 2002). این عنصر با تأثیر بر آنزیم‌های تخریب کننده کلروفیل، آنزیم‌های دخیل در تثبیتCo_2 و همچنین آسیب به غشا تیلاکوئیدی کلروپلاست، ظرفیت فتوسنتزی را به شدت کاهش می‌دهد (سانیتا و گابریلی،1999).

در اثر سمیت این عنصر علائمی شبیه به کمبود عناصر ضروری در گیاه ظاهر می‌گردد، زیرا کادمیوم با کاهش میزان عناصر ضروری یا اختلال در عملکرد آنها در ساختار گیاه، باعث مهار سنتز کلروفیل و یا به هم ریختگی ساختار کلروپلاست می‌شود. در بررسی واسیلو و یوردانوو (1997) نشان داده شد که کادمیوم باعث کاهش میزان کلروفیل کل، کلروفیلa، b و کاروتینوئیدها در گیاه می‌گردد.

تحت اثرات مضر کادمیوم، مالون دی آلدئید نیز تشکیل می‌شود که یک محصول سمی سلولی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها و نشان دهنده میزان تولید رادیکال-های آزاد و بافت‌های تخریب شده می‌باشد (وسیلو و همکاران،1997). کادمیوم با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب و در نهایت زوال غشاهای سلولی خواهد شد (وسیلو و همکاران، 2002).

تجمع و ظهور علائم سمیت کادمیوم در بافت گیاهی علاوه بر خصوصیات خاک و میزان در دسترس بودن این

[1] International Agency For Reserch on Cancer

عناصر، به عواملی نظیر گونه و رقم گیاه نیز بستگی دارد (راموس و همکاران،2002). بر این اساس بررسی تأثیر سمیت این عنصر در گیاهان مختلف ضرروی به نظر می‌رسد. فلفل یک محصول کشاورزی بسیار با ارزش است و با دارا بودن تعداد زیادی از ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر ویتامین ث، ویتامین آ، کاروتینوئید و ترکیبات فنولی و ماده ضد سرطان کاپساسین، به منظور حفظ سلامتی در رژیم غذایی انسان، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (هاوارد و همکاران،2000). بنابر این تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف کادمیوم بر ویژگی‌های رشدی و شاخص‌های مورفولوژیک شامل تعداد شاخه جانبی، وزن‌تر و خشک ریشه و شاخساره، طول و حجم ریشه و همچنین بررسی تغییرات کلروفیل a، b و کل، شاخص پایداری غشا سلول و محتوای نسبی آب بافت در گیاه فلفل انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال 1392، درگلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، به صورت کشت هیدروپونیک و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. بذور فلفل رقم (*Capsicum. Frutescens .var kenya*) ابتدا در سینی مخصوص نشا حاوی کوکوپیت کشت شده و پس از رسیدن به مرحله 5-6 برگی به محیط کشت اصلی در گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی پیت ماس و پرلیت به نسبت 1:1 منتقل گردیدند. در طول دوره رشد، گلدان‌ها روزانه سه بار و هر بار به میزان 100 سی سی با محلول غذایی هوگلند محلول دهی شدند، به طوری که رطوبت گلدان‌ها در حد رطوبت ظرفیت مزرعه ثابت نگه داشته شد. تیمارها شامل سه سطح کادمیوم (Cd_1= 0، Cd_2= 0/25 mM، Cd_3=0/5 mM)تأمین شده از منبع کلرید کادمیوم بود که پس از استقرار کامل گیاهان، در سه نوبت و به فاصله 20 روز یکبار در شرایط گلخانه اعمال شدند. اندازه‌گیری و ثبت صفات رویشی در طی این مطالعه به صورت یک نوبت دو روز قبل از اعمال تیمارها و سپس به فاصله هر شش روز یکبار پس از تیماردهی انجام شد. پس از گذشت 10 روز از اعمال تیمارها نمونه‌های برگی به آزمایشگاه منتقل شده و میزان کلرفیل، محتوای نسبی آب بافت و شاخص پایداری غشاء سلول اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و شاخساره

برای مقایسه وزن تر گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد، پس از اتمام دوره آزمایشی، بوته‌ها از فاصله دو سانتی متری بالای طوقه به وسیله تیغ تیز برداشت و ریشه‌ها به آرامی از محیط کشت جدا شدند. پس از چند بار شستشوی ریشه و شاخساره با آب مقطر، با ترازوی (saratarius مدل 211BP) توزین شده و درون پاکت‌های کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای اندازه-گیری وزن خشک، نمونه‌های گیاهی به مدت 48 ساعت در دمای 70 درجه سلسیوس درون آون قرار گرفته و پس از خشک شدن دوباره توزین گردیدند.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک و تعداد میوه

در طول دوره پرورش تعداد میوه حاصله از هر بوته ثبت شده و پس از گذشت سه ماه از انتقال نشا تمامی میوه‌ها برداشت و وزن تر و خشک میوه‌ها بر اساس گرم در هر بوته با ترازوی دیجیتال با دقت 0/001 اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری حجم ریشه شاخص

حجم ریشه با استفاده از قانون ارشمیدوس و بر اساس تغییر میزان حجم آب اندازه‌گیری گردید (حقیقی و همکاران،2012).

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتینوئید برگ

برای تعیین غلظت کلروفیل a ، b، کلروفیل کل و کاروتینوئید با استفاده از روش Non Maceration، ابتدا 50 میلی‌گرم نمونه برگی تازه از هر تیمار آزمایشی در 5 میلی لیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) به مدت چهار ساعت در دمای 65 درجه سانتی گراد در آون قرار داده شد. سپس جذب نوری عصاره‌های برگی در طول موج‌های 480، 649، 665 نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. اعداد به دست آمده در فرمول‌های مربوطه جایگذاری شده و ابتدا کلروفیل a و b و سپس کلروفیل کل و کاروتینوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید (هیسکوکس و ایسرائلستم، 1979).

(1)

$$chla = (12.47 \times A665) - (3.62 \times A649)$$

(2)

$$chlb = (25.06 \times A649) - (6.5 \times A665)$$

(3)

$$chlt = chla + chlb$$

(4)

$$c = \frac{(1000 \times A480) - (1.29chla - 53.78chlb)}{220}$$

که در فرمول‌های بالا *Chl a* کلروفیل a *chl b* کلروفیل b و C معادل رنگیزه کاروتینوئید می‌باشد.

سنجش محتوای نسبی آب بافت (RWC[1])

نمونه‌برداری با استفاده از قیچی و از آخرین برگ توسعه یافته تمامی تیمارهای آزمایشی انجام شد. وزن تر نمونه‌ها بلافاصله در آزمایشگاه با ترازوی دقیق اندازه-گیری شده و سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار گرفته و به مدت 24 ساعت در یخچال و در دمای چهار درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از 24 ساعت وزن اشباع برگی اندازه‌گیری شده و برگها مجدداً به مدت 24 ساعت در دمای 70 درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شده و وزن خشک هر نمونه به دست آمد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین با ترازوی دارای دقت یک ده هزارم در فرمول، مقدار نسبی آب بافت به دست می‌آید (ریچی و نگویان،1990).

(5)

$$RWC = \frac{Wi - WD}{Wf - WD} \times 100$$

که در این فرمول W_i وزن تازه، W_f وزن آماس و W_D وزن خشک نمونه های برگی می‌باشد.

تعیین شاخص پایداری غشاء سلول(MSI[2])

شاخص پایداری غشاء بر اساس میزان هدایت الکتریکی حاصل از نشت یون‌ها از سلول‌های برگ به درون آب دیونیزه شده اندازه‌گیری شد. بدین منظور به میزان 0/1 گرم نمونه برگی تازه از هر تیمار آزمایشی درون لوله‌های آزمایش حاوی 10 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده غوطه ور گردید، سپس در دستگاه حمام آب گرم در دمای 40 درجه سانتی گراد به مدت 10 دقیقه قرار داده شد و پس از طی این زمان، هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC متر مدل (Jenway) اندازه‌گیری شد. سپس مجددا نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت 30 دقیقه و در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و پس از رسیدن به دمای اتاق، هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری گردید. سپس اعداد حاصله در فرمول زیر جایگذاری شده و شاخص پایداری غشاء سلول محاسبه گردید (سریم و سریواستا 2001).

(6)

$$MSI = 1 - \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

که در فرمول بالا EC_1 = هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایشی در زمان 10 دقیقه و EC_2 هدایت الکتریکی نمونه‌ها در زمان 30 دقیقه می‌باشد

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی نتایج و تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزارهای Statistix و Excel انجام شد.

نتایج و بحث

رشد طولی و حجم ریشه

نتایج حاصل از تجزیه‌های آماری داده‌ها نشان می‌دهد که و با افزایش غلظت کادمیوم، به طور معنی‌داری طول و حجم ریشه کاهش می‌یابد (جدول 2). در اثر تیمار با کادمیوم کاهش بسیار معنی‌داری در رشد طولی ریشه مشاهده گردید که بیشترین کاهش در تیمار 0/5 میلی مولار و به میزان 12/2 درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد بود (شکل 1). این یافته‌ها با نتایج بسیاری از تحقیقات انجام شده در رابطه با اثر کادمیوم بر محدودیت رشد و کاهش رشد ریشه در گونه‌های گیاهی مطابقت دارد. به بیان باکر و پروکتور (1990) ریشه اولین اندامی است که در معرض سمیت فلزات سنگین قرار می‌گیرد و به طور ویژه‌ای به حضور عناصر سمی در محیط رشد حساسیت نشان می‌دهد، بنابر این معیار رشد ریشه به عنوان یکی از مهمترین معیارهای تشخیص سمیت عناصر سنگین در نظر گرفته می‌شود. برخی از محققین کاهش رشد طولی ریشه را در اثر تیمار با کادمیوم در لوبیا (بهاردوج و همکاران، 2009)، سویا (بالستراس و همکاران، 2001)، عدس (کریمی و نوجوان، 1384) گزارش داده‌اند. لی و همکاران (2009) کاهش حجم ریشه را در اثر تیمار با 100 میکرومولار در گیاه *alfredii Sedum* گزارش کرده و این اثر کادمیوم بر تولید زیست توده ریشه را پاسخی به تنش فلزات از طریق تغییر در الگوی رشد و مورفولوژی ریشه استنباط کردند. بر طبق نظر شافی و همکاران (2010) اختلال در رشد ریشه می‌تواند به دلیل ایجاد پیوندهای قوی بین مولکول‌های پکتین در دیواره سلولی به علت کاهش فضای درون سلولی و یا تشکیل لیگنین در دیواره سلولی به دلیل مواجهه با تنش کادمیوم باشد. کادمیوم می-تواند با اختلال در فرآیند تقسیم سلولی و ایجاد اختلالات کروموزومی و میتوز غیر طبیعی (شافی و همکاران، 2010) باعث کاهش در رشد و تشکیل زیست توده در ریشه شود.

---

1. Relative water contents
2. Memberane stability Index

جدول 1- تجزیه واریانس ساده برخی از شاخص‌های گیاه فلفل

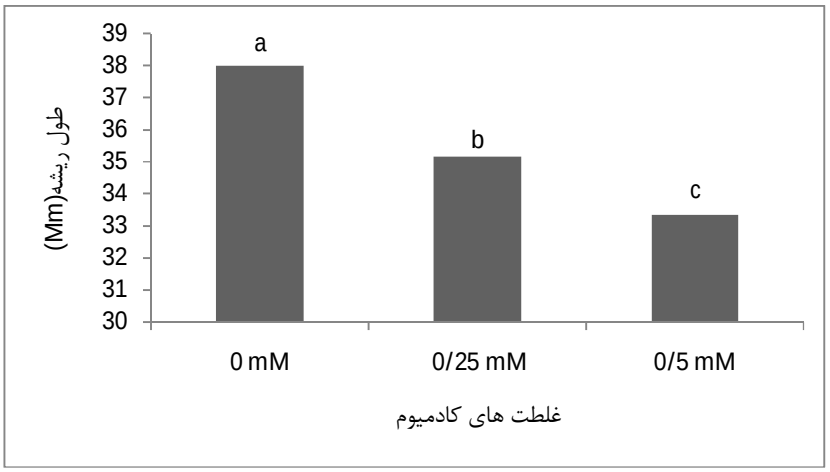
منابع تغییرات	درجه ازادی	میانگین مربعات							
		طول ریشه (سانتی متر)	حجم ریشه (میلی لیتر در گلدان)	ارتفاع شاخساره (سانتی متر)	تعداد برگ (در بوته)	وزن تر ریشه (گرم در گلدان)	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)	وزن تر شاخساره (گرم در گلدان)	وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)
کادمیوم	2	16/5833*	333/333*	49/248ns	113/444*	36/7778 *	0/01173 ns	840/1444 *	4/29994 *
خطا	16	0/1389	66/667	125/888	26/778	7/5556	0/40116	4/6333	0/70404
ضریب تغییرات		1/05	23/23	15/50	13/54	9/13	15/02	9/71	6/24

ns عدم وجود تفاوت معنی‌داری، * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد

ادامه جدول 1- تجزیه واریانس ساده برخی از شاخص های گیاه فلفل

منابع تغییرات	درجه ازادی	میانگین مربعات							
		محتوای نسبی آب برگ%	کلرفیلa (میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه)	کلرفیلb (میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه)	نسبت کلرفیل a به b	کاروتنوئید (میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه)	شاخص پایداری غشا سلول%	محتوای نسبی آب برگ%
کادمیوم	2	127/845*	26/088*	7/362*	20/3733 *	0/36044 ns	2553/0ns	45/2130ns	127/845*
خطا	16	18/942	3/4474	0/43235	2/6098	0/13112	26688/8	60/3959	18/942
ضریب تغییرات		6/13	10/9	8/79	7/04	15/58	13/15	9/88	6/13

ns عدم وجود تفاوت معنی‌داری، * تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد



شکل 1- تأثیر سطوح مختلف کادمیوم بر طول ریشه

طول اندام هوایی و تعداد برگ

نتایج تجزیه واریانس برای این صفات در جدول (1) منعکس می باشد. با توجه به این جدول برای صفت طول اندام هوایی هیچ اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری بین تیمارهای اعمال شده مشاهده نگردید. برخی محققین کاهش رشد طولی ساقه را در اثر تیمار با کادمیوم را در گیاهان مختلف نظیر گندم (وسلوو و همکاران،2003)، سویا (شوت و مکفی،2006)، جو (تریاکیوگلو و همکاران،2006) گزارش کرده‌اند که با یافته‌های حاصل از بررسی حاضر در تضاد است. با توجه به این نکته که علائم سمیت کادمیوم در گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهان می‌تواند به طور متفاوت ظهور کند (راموس و همکاران،2002)، بررسی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که کادمیوم به عنوان عاملی بازدارنده بر روی رشد گیاه فلفل بوده و اثر سمیت این عنصر بر روی رشد طولی ریشه مشهودتر از اندام هوایی بوده است.

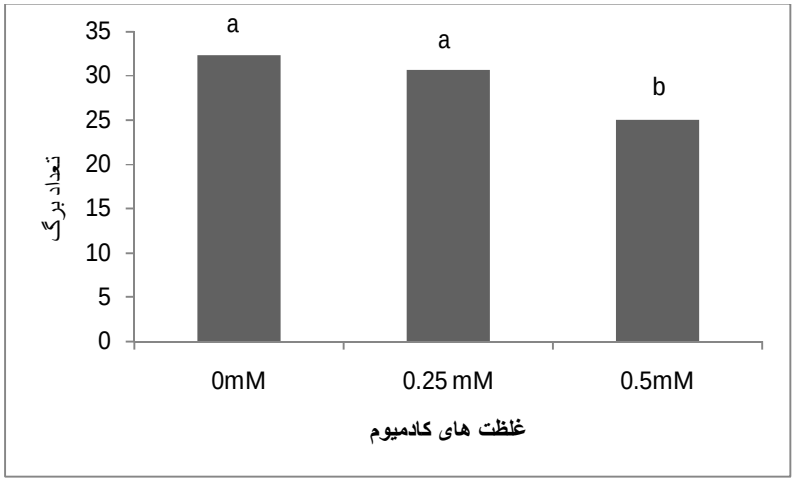
بررسی نتایج تجزیه واریانس برای صفت تعداد برگ حاکی از تأثیر معنی‌دار کادمیوم در سطح احتمال 5%

می‌باشد. میانگین تعداد برگ در سطح تیمار 0/5 میلی مولار کادمیوم 18/47درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول 2). ولی بین تیمار 0/25 میلی مولار کادمیوم و گیاهان شاهد هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل 2). این کاهش در تعداد برگ متناسب با افزایش میزان کادمیوم توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (علیخان، 2012 ؛رضی الدین و همکاران، 2011 ؛ سیدهو و همکاران، 2008). شانکر و همکاران (2005) کاهش ارتفاع گیاهان در اثر سمیت کادمیوم گزارش کرده و انتقال عناصر سمی به اندام‌های هوایی گیاه را دلیل ایجاد اختلال در سوخت و ساز سلولی و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی طبیعی و در نتیجه کاهش رشد در گیاه دانستند. همچنین کادمیوم با آسیب رساندن به سلول‌های ریشه و جلوگیری از رشد ریشه، باعث کاهش انتقال آب و عناصر ضروری به گیاه شده و در نهایت اثر منفی بر روی تولید و افزایش زیست توده در گیاه دارد (بارسلو و پوسچنریدر، 1990).

جدول 2- اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر صفات و شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه فلفل

غلظت کادمیوم	حجم ریشه (میلی لیتر در گلدان)	ارتفاع شاخساره (سانتی متر)	وزن تر ریشه (گرم در گلدان)	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)	وزن تر شاخساره (گرم در گلدان)	وزن خشک شاخساره (گرم در گلدان)	تعداد میوه	وزن تر میوه (گرم در هر بوته)	وزن خشک میوه (گرم در هر بوته)
شاهد	46/667 a	75/765 a	33/667 a	4/155a	78/667 a	14/802 a	15/667 a	5/133a	0/707a
25 میلی مولار	30/000ab	73/000 a	30/000ab	4/214a	68/333 b	12/997 b	11/333b	5/102a	0/560b
50 میلی مولار	36/667 b	66/75 a	26/667 b	4/280 a	54/333 c	12/536 b	7/000 c	5/071a	0/466c

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% تفاوت معنی‌دار دارند.



شکل 2- تأثیر سطوح مختلف کادمیوم بر تعداد برگ

وزن تر و خشک ریشه و شاخساره

افزودن سطوح مختلف کادمیوم به محیط رشد گیاه باعث اثر معنی‌دار بر وزن تر ریشه و شاخساره گردید (جدول 2). افزایش غلظت کادمیوم به 0/5 میلی‌مولار باعث کاهش میانگین وزن‌تر ریشه و شاخساره به ترتیب به میزان 20/7 و 38 درصد نسبت به تیمار شاهد شد، ولی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت. همچنین با کاربرد کادمیوم تأثیر معنی‌داری بر روی وزن خشک شاخساره بین دو سطح تیمار 0/5 و 0/25 میلی مولار دیده نشد، اما اختلاف بین این دو تیمار با گیاهان شاهد معنی-دار بود. به طوری که در تیمار 0/5 میلی مولار کادمیوم 15/3 درصد کاهش نسبت به تیمار مشاهده گردید. بر

اساس نتایج این بررسی کادمیوم باعث کاهش در وزن‌تر و خشک شاخساره و همچنین وزن‌تر ریشه شد ولی تأثیری بر وزن خشک ریشه نداشت، خدارحمی و همکاران (1391) نیز در طی بررسی تأثیر کادمیوم بر روی دو رقم مختلف خیار اعلام کردند که سمیت کادمیوم باعث کاهش وزن‌تر و خشک رقم نگین گردید ولی در رقم سوپردامینوس تنها وزن تر ریشه را کاهش داده و بر روی وزن خشک ریشه تأثیری نداشت. بنابراین این تأثیر متفاوت کادمیوم بر گونه و ارقام مختلف می‌تواند دلیل عدم تأثیر سمیت این عنصر بر وزن خشک ریشه در گیاه فلفل نیز باشد. میلان و همکاران (2009) در گیاه گوجه-فرنگی، کاهش وزن ریشه و اندام هوایی را در اثر تیمار با کادمیوم گزارش کردند که با نتایج بررسی گائویا و همکاران (2001) بر روی گیاه لوبیا نیز مشابه است. تریاکیوگلو و همکاران (2006) نیز نشان دادند که افزایش سطح کادمیوم از صفر تا 120 میکرومولار در محلول غذایی باعث کاهش وزن ریشه و اندام هوایی در گیاه جو نسبت به تیمار شاهد گردید. حضور کادمیوم در محیط رشد گیاه باعث کاهش سرعت تبخیر و تعرق و جذب یون بوسیله گیاه شده و با اختلال در جذب آب و کاهش غلظت سایر یون‌ها مانع از انجام فعالیت‌های طبیعی ریشه می‌گردد (وسلوو و همکاران، 2003). کادمیوم همچنین با ایجاد اختلال در فرایندهای مهم گیاه نظیر فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن (وانگ و همکاران، 2008)، کاهش جذب و انتشار عناصر غذایی ضروری نظیر Fe, Mg ,Ca, K (گوگوسینا و همکاران، 2002) در نهایت منجربه کاهش رشد و تولید زیست توده در گیاه می‌گردد.

وزن تر و خشک و تعداد میوه

بررسی نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌های مربوط به شاخص‌های عملکرد گیاه نشان می‌دهد که افزودن کادمیوم به محیط رشد گیاه تأثیر معنی‌داری بر وزن تر میوه‌ها نداشت ولی باعث کاهش معنی‌داری در وزن خشک میوه در هر تک بوته مورد مطالعه گردید به طوری که در تیمار 0/5 میلی مولار کادمیوم کاهش 34/08 درصدی در وزن خشک میوه‌ها نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد (جدول2). افزایش غلظت کادمیوم تا غلظت 0/5 میلی مولار باعث شد که تعداد میوه کاهش یافته و کمترین میزان تشکیل میوه نسبت به تیمار شاهد در غلظت 0/5 میلی مولار کادمیوم مشاهده شد (جدول2) که با نتایج حاصل از بررسی عبدو و همکاران (2012) بر روی سویا و سیدهو و همکاران (2008) بر روی گیاه بادمجان همخوانی دارد. چاندرا شکر و همکاران (2011) نیز پس از بررسی تأثیر کادمیوم بر روی رشد و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی اظهار داشتند که آسیب وارده به دلیل حضور عنصر سنگین کادمیوم در محیط رشد این گیاه باعث کاهش وزن و اندازه میوه و کاهش چشمگیری در تعداد میوه در هر بوته گردید به طوری که با افزایش میزان غلظت کادمیوم به 300 میلی‌گرم کادمیوم در کیلوگرم خاک هیچ میوهای تشکیل نگردید. همچنین این محققین گزارش دادند که کادمیوم باعث تأخیر در رسیدگی میوه‌ها شد. بنابر نتایج حاصل از این بررسی و همچنین بررسی سیدهو و همکاران (2008) حضور کادمیوم در محیط کشت باعث کاهش در باروری دانه گرده شده که به طبع باعث ریزش گل و کاهش تشکیل میوه می‌گردد و در صورت تشکیل میوه در غلظت‌های پایین باعث کاهش لقاح و تشکیل بذر در میوه گردیده که در نتیجه از رشد بهینه میوه جلوگیری می‌کند.

ادامه جدول 2- اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم برصفات و شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاه فلفل

غلظت کادمیوم	کلرفیلa (میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه)	کلرفیل b (میلی گرم در هر گرم وزن تازه)	کلرفیل کل (میلی گرم در هر گرم وزن تازه)	نسبت کلروفیل a به b	کاروتنوئید (میلی گرم در هر گرم وزن تازه)	شاخص پایداری غشا سلول%
شاهد	20/414 a	9/ 000 a	25/641 a	2/ 307a	1113/4 a	81/905 a
25 میلی مولار	15/684 b	7/560 b	21/667 b	2/ 679 a	1065/8 a	79/622 a
50 میلی مولار	15/000 b	5/870 c	21/221 b	1/ 986a	1060/4 a	74/336 a

میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% تفاوت معنی‌دار دارند.

میزان کلروفیل a, b و کاروتینوئید

نتایج حاصل از اندازه‌گیری رنگیزه‌ها پس از اعمال تیمارهای کادمیوم (جدول2) کاهش در میزان کلرفیلa و b را نشان داد، به نحوی که در اثر افزایش غلظت کادمیوم تفاوت بسیار معنی‌داری بین محتوای کلروفیل b گیاهان تیمار شده و شاهد دیده شد. محتوای کلرفیل b در

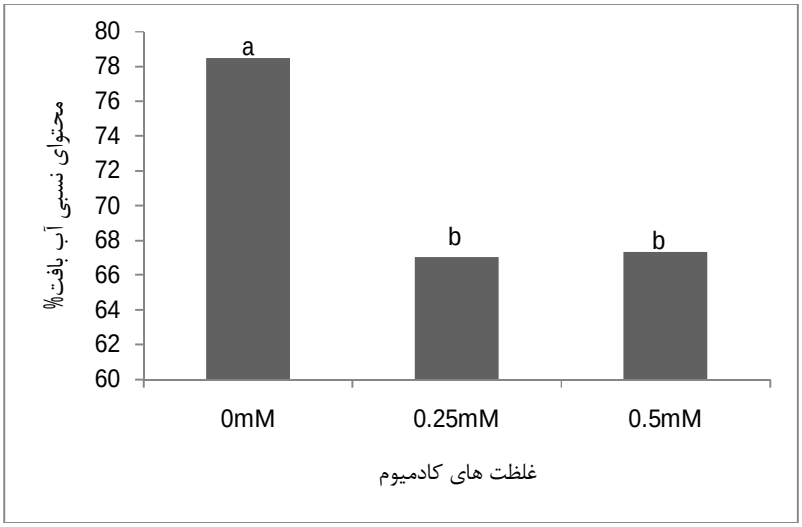
تیمارهای 0/5 و 0/25 میلی مولار به ترتیب به میزان 15/9 و 34/7 درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داشت و بیشترین میزان کاهش در محتوای کلروفیلa در تیمار 0/5 میلی مولار و 26/5 درصد نسبت به تیمار شاهد بوده که با توجه به داده‌های جدول مقایسه میانگین (جدول2) اختلاف معنی‌داری بین دو سطح تیمار کادمیوم در این فاکتور دیده نشد. همچنین افزودن کادمیوم به محیط رشد گیاه تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص نسبت کلروفیل a / b نداشت، ولی میانگین این شاخص در سطح 0/25 میلی مولار به میزان16/12 درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش و سپس در سطح تیمار 0/5میلی مولار به میزان 13/89 درصد کاهش نشان داد.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه‌های اماری ارائه شده در جدول (1) کلرفیل کل(a+b) نیز در تیمارهای اعمال شده کاهش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که در تیمار 0/5 میلی مولار به میزان 18/19 درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید ولی اختلاف بین دو سطح تیمار کادمیوم معنی‌دار نبود.گزارشات زیادی مبنی بر کاهش سنتز رنگیزه‌ها در حضور کادمیوم وجود دارد. واسیلو و یوردانوو (1997) طی یک بررسی اظهار کردند که کادمیوم با آسیب به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست، ظرفیت فتوسنتزی گیاه را به شدت کاهش داده و باعث توقف رشد در گیاه می‌گردد. کاهش میزان ذخیره کلروفیل در برگ می‌تواند به دلیل مهار سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط کادمیوم از طریق بازدارندگی بر جذب عناصر غذایی ضروری نظیر آهن، منگنز و منیزیم باشد (پراساد و استرزاتکا، 2002). جیانپنگ و همکاران (2010) نیز مهار انتقال آهن نشاندار را در اندام‌های گیاهان تحت تیمار با کادمیوم گزارش کردند. علت این امر این است که کادمیوم با عناصر مغذی ضروری که در سنتز کلروفیل نقش اساسی دارند در رقابت بوده و با جایگزین شدن در فرایند جذب ریشه‌ای از طریق پروتئین‌های ناقل موجود در غشای سلولی، جای این فلزات را در ساختار مولکول کلروفیل اشغال کرده و مانع سنتز این رنگیزه می‌گردد و یا با جلوگیری از جذب نور، باعث از بین رفتن کلروفیل وکاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود (کوپر و همکاران، 1998). همچنین کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌تواند از طریق توقف فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز کلروفیل مانند آمینولوولنیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز باشد (واسیلو و یوردانوو، 1997)

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول1) در سطح احتمال 5 درصد در تیمارهای کادمیوم بر روی کاروتینوئید برگ کاهش معنی‌داری را نشان نداد. ولی بر اثر تیمار با کادمیوم کاروتینوئید کاهش یافته به طوری که در تیمار 0/5 میلی مولار کادمیوم 7/4 درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد دیده می‌شود. تحت سمیت کادمیوم انواع مختلف اکسیژن های واکنشگر (ROS) تولید شده و سبب کاهش در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد. کاروتینوئیدها در طی تنش‌های اکسیداتیو القا شده به عنوان یک سیستم حفاظتی عمل کرده و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. کاهش رنگیزه‌های کاروتینوئیدی بدلیل نقش آنها در سمیت زدایی کلروفیل و فرونشانی کلروفیل‌های برانگیخته و ممانعت از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن است که در نهایت باعث از هم پاشیدن ساختار کاروتینوئیدها می‌گردد (سانیتاتا و گابریلا، 1999).

محتوای نسبی آب بافت و پایداری غشا سلولی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش کادمیوم به محیط کشت میزان محتوای نسبی آب بافت در سلول‌های برگ گیاه به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل3). این میزان در گیاهان تیمار شده با کادمیوم به میزان 14/5درصد کمتر از گیاهان شاهد بود، اختلاف معنی‌داری بین دو سطح تیمار کادمیوم دیده نشد (جدول2). کاهش در میزان نسبی آب بافت در گیاه تربچه و کاهو نیز گزارش شده است (کاستا و مورال، 1994؛ فرخ و همکاران، 2011). کرانتو و همکاران (2006) کاهش محتوای آب نسبی بافت برگ گیاه ذرت را تحت سمیت کادمیوم به علت از بین رفتن تعادل آب سلول دانستند، که به وسیله شاخص RWC مشخص می‌گردد. کادمیوم با کاهش طول ریشه، کاهش میزان انتقال مواد از ریشه به شاخساره، کاهش قابلیت تراوایی ریشه، کاهش اندازه و تعداد آوندهای چوبی، افزایش چوب پنبه‌ای شدن و لیگنینی شدن ریشه، جلوگیری از تولید ریشه‌های موئین، آسیب به نوک ریشه‌های اصلی (بارسلو و پستچنریدر 1990) موجب ایجاد اختلال در جذب آب و به هم ریختن تعادل آبی درگیاه می‌گردد. تجمع پرولین و آمینو اسیدهای آزاد، در پاسخ به تنش کادمیوم، دلیل مناسبی برای کاهش در میزان نسبی آب بافت و بوجود آوردن خشکی فیزیولوژیکی در گیاه است (اقبال حسن و همکاران، 2012؛ برکتعلی و همکاران، 2007).



شکل 3- تأثیر سطوح مختلف کادمیوم بر محتوای نسبی آب بافت (RWC)

با مقایسه داده‌های حاصل از تجزیه آماری در مورد شاخص پایداری غشاء سلول مشاهده می‌کنیم که بر خلاف انتظار سمیت کادمیوم تأثیر معنی‌داری بر پایداری غشاء سلولی نداشته است. اولین علامت تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم، پروکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی است که بدنبال افزایش پروکسیداسیون چربی‌ها، غشاء سلولی تخریب شده و نشت یونی اتفاق می‌افتد و سپس میزان مالون دی آلدئید که شاخصی جهت سنجش میزان آسیب به غشاهای بیولوژیکی است بالا می‌رود (عبدل آل و مایسا، 2008). گزارشات بسیاری مبنی بر افزایش میزان مالون دی آلدئید، ناشی از پروکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی در اثر تیمار با کادمیوم وجود دارد (سلطانی و همکاران، 1385؛ خلیقی جمال آباد و همکاران، 1387). اسفندیاری و همکاران (1391) گزارش دادند که سمیت کادمیوم با تأثیر بر پرکسیداسیون چربی‌ها باعث افزایش در شاخص مالون دی آلدئید گردید ولی تأثیر معنی‌داری بر شاخص پایداری غشاءسلولی نداشت و دلیل این تناقض در نتایج را سازوکارهای دفاعی اندامک‌های مختلف سلولی در مواجهه با عوامل آسیب رسان استنباط کردند به نحوی که در سنجش شاخص پایداری غشاء سلولی، هدایت الکتریکی الکترولیت‌های نشت یافته از غشاء پلاسمایی سلول‌های بافت برگی اندازه‌گیری می‌شود. در حالی که ممکن است کادمیوم به غشاء اندامک‌های درون سلولی آسیب وارد کرده باشد ولی به دلیل حفظ ساختار نفوذپذیری انتخابی پلاسما از خروج عناصر و متابولیت‌ها ممانعت شده باشد.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که حضور عنصر کادمیوم در محیط کشت به وضوح بر عملکرد و برخی شاخص‌های رشد گیاه فلفل تأثیر گذار بوده و باعث کاهش رشد و اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف در ساختار گیاه گردید.

به بیان دیگر تأثیرات تنش ناشی از افزایش غلظت کادمیوم بر فرایندهای مختلف فیزیولوژیک گیاه متفاوت می‌باشد ولی در کل کاهش در رشد و عملکرد گیاه به وسیله کادمیوم می‌تواند به عنوان شاخصی برای آثار مخرب این عنصر در پیکره گیاه باشد. کاربرد کادمیوم باعث کاهش در شاخص‌های رشدی ریشه شامل طول و حجم ریشه گردید و تأثیر آن بر رشد ریشه نسبت به شاخساره مشهود تر بود که نشان دهنده تلاش گیاه برای ایجاد سازگاری بیشتر در برابر غلظت‌های مسموم کننده این فلز و مبادرت به تجمع آن در ریشه و محدود کردن انتقال آن به اندام‌های هوایی است.

کاهش در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان از آثار مخرب کادمیوم و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن بود که آسیب‌های اکسیداتیو و کاهش رشد، تولید زیست توده و عملکرد گیاه را بدنبال داشت. با توجه به نتایج بدست آمده حضور این عنصر در محیط رشد گیاه باعث کاهش وزن خشک میوه و کاهش میوه‌دهی و در نتیجه اختلال و کاهش در عملکرد گیاه گردید. برای تعیین دقیق تأثیر سمیت کادمیوم بر عملکرد گیاه اندازه‌گیری این عنصر در بافت میوه ضروری به نظر می‌رسد ولی به دلیل محدودیت‌های آزمایشگاهی میزان کادمیوم در بافت میوه

فلفل اندازه‌گیری نشد که بررسی این مهم در تحقیقات بعدی پیشنهاد می‌گردد.

همچنین کادمیوم باعث کاهش محتوای نسبی آب بافت گیاه گردید که نشان می‌دهد افزایش این عنصر سمی به محیط رشد گیاه باعث به هم خوردن تعادل آبی گیاه و ایجاد خشکی فیزیولوژیکی در گیاه می‌گردد.

فهرست منابع:

1. اسفندیاری، ع.، وحدتی راد، ا.، شکرپور، م.، شکاری، ف. 1391. نقش توقف فعالیت آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز بر رشد و سیستم آنتی اکسیدانتی در گیاه گندم. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد 25. شماره 4.
2. رحمانی، ح ر.، 1377. بررسی خصوصیات شیمیائی و غلظت عناصر سنگین کادمیوم، سرب و نیکل در پساب خروجی چند واحد صنعتی شهر یزد.گزارش نهائی طرح معاونت پژوهشی دانشگاه یزد.
3. سلطانی، ف.، قربانعلی، م.، منوچهری کلانتری، خ. 1385. اثر کادمیوم بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دی آلدئید در گیاه کلزا. مجله زیست شناسی ایران. جلد 19. شماره2.
4. کریمی، گ.، نوجوان، م. 1386. بررسی اثر کادمیوم کلرید بر پارامترهای رشدی، محتوای پرولینریال قندها و پروتئین‌های محلول در دانه رست‌های عدس*(Lenes miller)*. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی. شماره76.
5. Abdo, F. A., D.M.A. Nassar, E F. Gomaa and R.M.A. Nassar.2012. Minimizing the Harmful Effects of Cadmium on Vegetative Growth, Leaf Anatomy,Yield and Physiological Characteristics of Soybean Plant (Glycine max (L.) Merrill) byFoliar Spray with Active Yeast Extract or with Garlic Cloves Extract. Res. J. Agriculture and Biological Sciences. 8(1): 24-35.
6. Ali khan, M. A. 2012. Effect of cadmium on growth and metabolism of phaseolus mungo. J. environ. Bhol. 33:173-179.
7. Antoniadis, N., and B. J. Alloway. 2001. Availability of Cd, Ni and Zn to rye grass in seawage sludge treated soil at different temperatures. Water, Air and soil pollut. 132:201–204.
8. Barcelo, L., and C. Poschenriedr. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A reaview. Jornal of plant Nutr. 13:1-37.
9. Barket A., I. Rani, S. Hayat, and A. Ahmad. 2007. Effect of 4-cl-indul-3-aceticacid on seed germination of cicer arientium exposed to cadmium. Acta Bot. Croat. 66(1):57-65.
10. Balestrasse, K. B., L. Gardey, S. M. Gallego, and M. L. Tomaro. 2001. Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Australin Jornal of Plant Physiology. 28:497-504.
11. Baker, A. J. M., and j. Proctor. 1990. The influence of cadmium, lead and zinc on the distribution an evolution of metallophyte in the British Islrs. Plant Systematic and Evolution. 173:91-108.
12. Benavides, M. P., S. M. Gallego, and M. L. Tomaro. 2005. Cadmium toxicity in plant. Braz. J. of Plant Physiol. 17(1):21-34.
13. Bhardwaj, P., A. K. Chaturvadi, and P. parsad. 2009. Effect of enhanced lead and cadmium in soil on physiological and biochemical attributes of Phaselous vulgaris L. Nature and Science. 7(8):63-75.
14. Chandra Shekar, C.h., D.Sammaiah, M. Rambabu and K. Jaganmoha Reddy. 2011. Effect of cadmium on tomato growth and yield attributes. J. Microbiol. Biotech. Res. 1 (3):109-112.
15. Costa, G., and E. Stipz. 1997. Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured Lupinus albus. Plant sci. 128:131- 140.

16. Costa, G., and J.L. Moral. 1994. Water relation, gas exchenge and amino acide content in Cd-treated lecttuce. Plant Physiol. Biochem. 32:561-570.
17. Farokh, S., A. A. Mosa, A.A. Taha, H. M. Ibrahim, A.M.E. Gahmary. 2011. Protective effect of humic acid and on Radish(Raphanuse satvius, L. Var. Sativing) plant subjected to cadmium strees. Jornal of stress Phsiology&Biochemistry. Vol7. 99-116.
18. Gogorcena, Y., J. J. Lucena, and J. Abadia. 2002. Effect of Cd and Pb in suger beets Plants grown in nutrient solution: Induced Fe deficiency and growth inhibition. Funct. Plant Biol. 29:1453-1464.
19. Gouia, H., M. H. Ghorbal and C. Meyer. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of nitrate assimilation pathway in bean. Plant Physiology. 38:629-638.
20. Howard, L. R., S. T. Talcott, C. H. Brenes and B. Villalon. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars as influence by maturity. J. Agric. Food Chem. 48:1713-1720.
21. Hiscox, J.D., and G.F. Israelstam. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57: 1332-1334. Pollution. 131:453-459.
22. Hassan, I., M. Iqbal, S. Qurat-ul-Ain, R. Rasheed, S. Mahmood, A. Perveen, A. Wahid. 2012. Cadmium dose and Exposure-time dependuct alteration in growth and physiology of maize (zea mays). International Jornal of agriculture & Biology.14(6)959-964.
23. Jianpeng F., S. Qinghua, W. Xiufeng, W. Min.2010. Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity cucumis satvius L. Science Horticulture. 123:521-530.
24. Kupper, H., f. Kupper. and M. Spiller. 1998. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plant.Photosynthsis Res. 58:123-133.
25. Li., T., X. Yang, L. Lu, E. Islam, Z. He. 2009. Effect of zinc and cadmium intraction on root morphology and metal translocation in a hyperaccumulating species under hydroponic condition. Jornal of Hazardous Materials. 169:734-741.
26. Maushkar J. M. 2007. Cadmium –An Environment Toxicant, Central Pollution Control Board, Ministry of Environment & Forests, Govt of india, Parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Delhi- 110032.
27. Millan, A., R. Sagardoy, M. Solanas, A. Abadia, and J. Abadia. 2009. Cadmium toxicity in tomato (Lycopersicon esculentum) plant grown hydroponics. Enviromental and Expermental Botany. 65:376-385.
28. Prasad, M., K. Strazalka. 1998. Impact of heavy metals on photosynthesis. L. Exp. Bot. 41:314-320.
29. Ramos, I., E. Esteban, J. J. Lucena, and A. Garat. 2002.Cadmium uptakeand subcellular distribution in plant of Lactuca sp. Cd-Mn intraction. Plant Science. 162:761-767.
30. Raziuddin, N., Farhatullah, G. Hassan, M. Akmal, S. Slim Shah, F. Mohhamad, M. Shafi, J. Bakht, and W. zhou. 2011. Pak. J. Bot. 43(1):333-340.
31. Sanitata di toppi, L., and R. Gabbriella. 1999. Response to Cd in higher plant- Review. Envi. And Exp Bot. 45:105-130.
32. Shafi, M., Z. Guoping, J. Bakht, M. A. khan, E. Islam., M. D. khan, and Raziuddin. 2010. Effect of cadmium and salinity stresses on root morphology of wheat. Pak. J. Bot. 42(4)2747-2754.
33. Shanker, A. K., C. Cervantes, H. Loza-Tavera and S. Avudainayagam. 2005. Chomium toxicity in plants. Environ. Intl. 31:739-753.
34. Shut, T., and S. M. Macfie. 2006. Cadmium and zinc accumulation in soybean: A threat to food safety? Sci. Total Environ. 371:63-73.

35. Siddhu, G., D. Shingh sirohi, K. Koshyap, I. alikhan, and M. A. ali khan. 2008. Toxicity of cadmium on growth and yield of Solanum melongena. J. Environ. Biol. 29(6):853-857.
36. Tiryakioglu, M., S. Eker, F. Ozkutlu, S. Husted and I. Cakmak. 2006. Antioxidanmt defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. J. Trace Elem. Med. Biol. 20:181-189.
37. Torres, E., A. Cid, C. Herreo, J. Abalde. 2000 . Effect of cadmium on growth, ATP content, carbon fixation and ultra structure in the marine diatom Phaeodactylum tricornutum Bohlin. Water, Air, Soil Pllution. 117:1-14.
38. Vassilev, A., and Yordanov I. 1997. Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium treated plant – review. Plantphysiology.23:114-133.
39. Vasssilve, A., C. F. Liadon, M. D. C. Matos, J. C. Ramalho and I. Yordanov. 2002. Phytosynthic performance and content of some nutrients in cadmium -and copper- treated barley plants. J. Plant Nutr. 25:2343-2360.
40. Veselov, D., G. Kuudoyarova, M. Syymonyan and S. T. Veselov. 2003. Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seadling. Plant Physiol. 117:353-359.
41. Wang, L., Q. Zhou, L. Ding, Y. Sun. 2008. Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolismin leaves of Solanum Nigarum L. J. Hazard. Mater. 154:818-425.
42. Zhang, G., M. Fukami, and H. Sekimoto. 2002. Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. Fild Crops Research. 77:93-98.