

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی زراعت

تأثیر غلظت‌های مختلف آرسنیک و کادمیم بر رشد، فعالیت آنزیم‌های
آنتی اکسیدانی و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در دو بخش هوایی و
ریشه بادرنجبویه

نگارنده: عفت فخرمحمدی

استاد راهنما

دکتر مصطفی حیدری

اساتید مشاور

دکتر مهدی بابائیان

دکتر مهدی برادران فیرزوآبادی

اسفند ۱۴۰۰

در این صفحه صورت جلسه دفاع را قرار دهید. لازم است پس از صحافی این صفحه مجدداً توسط دانشکده مهر گردد و استاد راهنما با امضای خود اصلاحات پایان نامه را تایید کند.

تقدیم اثر

تقدیم به:

خدایی که آفرید

جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را، عشق را

و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمید

و

روح پدر و مادر عزیزم

تشکر و قدردانی

پاس و ستایش خدای راجل و جلالت که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درخشان.

باسپاس و تقدیر

تشکر قلبی و لسانی خود را از استاد عالی قدر جناب آقای دکتر مصطفی حیدری که زحمت راهنمایی این پایان نامه را عمده دار گردیدند و در تمامی مراحل انجام رساله از راهنمایی های مدبرانه ایشان استفاده نمودم ابراز می دارم و توفیقات روز افزون ایشان را توأم با صحت و سعادت خواستارم.

از اساتید مشاور آقای دکتر مهدی بابائیان و آقای دکتر مهدی برادران فیروز آبادی که در امر مشاوره این رساله مساعدت نمودند و در این امر نهایت مراقبت، توجه و دقت خود را مبذول فرموده اند کمال تشکر و امتنان را دارم و برای ایشان از خداوند سلامت و سعادت ابدی را خواهانم.

از اساتید محترم داور، آقای دکتر حمید رضا اصغری و آقای دکتر محمد رضا عامریان که قبول زحمت فرموده و با مطالعه و ارائه نظرات ارزشمند خویش در ارتقاء سطح این پایان نامه موثر واقع شدند کمال تشکر را دارم.

در پایان برای همه ی عزیزانی که در این راه به قلم و قدم مریاری کرده اند آرزوی موفقیت مینایم و توفیق روز افزونشان را از خداوند متعال خواستارم.

عفت فخر محمدی

زمنان ۱۴۰۰

تعمدنامه

اینجانب **عفت فخرمحمدی** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته اگروتکنولوژی- فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تاثیر غلظت های مختلف آرسنیک و کادمیم بر رشد، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در دو بخش هوایی و ریشه بادرنجبویه تحت راهنمایی آقای دکتر مصطفی حیدری متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « **Shahrood University of Technology** » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. یکی از گیاهان مهم دارویی می‌باشد، با توجه به اینکه در مناطق مختلف آلودگی خاک به عناصر سنگین ممکن است کشت گیاهان دارویی را مختل کند از این رو آزمایشی به منظور بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف آرسنیک و کادمیم در دو بخش هوایی و ریشه گیاه بادرنبویه آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مجتمع آموزش عالی شیروان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح آرسنیک به مقدار $A_1=0$, $A_2=10$, $A_3=20$ و $A_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع آرسنات سدیم و چهار سطح کادمیم به مقدار $C_1=0$, $C_2=10$, $C_3=20$ و $C_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات کادمیم بودند. نتایج نشان داد اثر متقابل آرسنیک و کادمیم تاثیر معنی داری بر میزان کلروفیل *a*، و کارتنوئید برگ در گیاه بادرنبویه داشت و سبب کاهش آن‌ها شدند. وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک و نیز طول ریشه بادرنبویه نیز به طور معنی داری تحت تاثیر کاربرد آرسنیک و کادمیم قرار گرفتند. در این بین غلظت عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر در برگ گیاه بادرنبویه با کاربرد آرسنیک و کادمیم کاهش یافت. این کاهش در تیمار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک نسبت به شاهد به ترتیب برای نیتروژن، پتاسیم و فسفر معادل ۳۸/۳، ۴۳/۵ و ۱۶/۱ درصد بودند. برای کادمیم نیز به ترتیب معادل ۱۸/۵، ۲۶/۴ و ۲۹/۱ درصد بودند. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ تحت تاثیر اثر متقابل آرسنیک و کادمیم قرار گرفت و میزان فعالیت آنها همراه با افزایش غلظت کادمیم و آرسنیک در خاک، افزایش پیدا کرد. غلظت دو عنصر کادمیم و آرسنیک در دو بخش هوایی و ریشه گیاه بادرنبویه در این آزمایش بصورت معنی داری تغییر پیدا کرد به طوری که که بیشترین مقدار کادمیم و آرسنیک بخش هوایی به ترتیب برابر ۲۱/۷ و ۰/۸۵ میکروگرم در گرم و در ریشه به ترتیب برابر ۲۷/۳ و ۴۲/۲ میکروگرم در گرم ماده خشک بودند. این مقادیر در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک و کادمیم بدست آمد. نتیجه گیری بدین صورت است که وجود آرسنیک و کادمیم در محیط رشد بادرنبویه سبب کاهش در بخش هوایی و ریشه گیاه بادرنبویه می‌شود. همچنین حضور این دو عنصر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیز تجمع عناصر غذایی در دو بخش هوایی و ریشه این گیاه افزایش داد. این تغییرات تا سطح ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسینک و کادمیم ادامه داشت.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، ریشه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن خشک اندام هوایی.

فهرست مطالب

۱	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱ مقدمه
۳	۲-۱ تاریخچه
۳	۳-۱ گیاه شناسی بادرنجبویه
۵	۱-۳-۱ پراکنش بادرنجبویه
۵	۲-۳-۱ ترکیبات شیمیایی بادرنجبویه
۶	۳-۳-۱ نیازهای اکولوژیکی
۶	۴-۳-۱ نحوه تکثیر
۷	۵-۳-۱ دور آبیاری
۷	۶-۳-۱ نیازهای اصلی غذایی
۷	۴-۱ فلزات سنگین
۸	۱-۴-۱ کادمیم
۸	۲-۴-۱ آرسنیک
۹	۵-۱ اهداف پژوهش
۱۱	فصل دوم: بررسی منابع
۱۲	۱-۲ عناصر سنگین
۱۲	۲-۲ تنش عناصر سنگین
۱۳	۳-۲ کادمیم
۱۳	۱-۳-۲ اثرات کادمیم بر بدن انسان
۱۴	۲-۳-۲ منابع تولید کادمیم
۱۵	۳-۳-۲ جذب و انتقال کادمیم در گیاهان
۱۶	۴-۳-۲ تنش کادمیم
۱۸	۴-۲ آرسنیک
۱۹	۱-۴-۲ اثرات آرسنیک بر بدن انسان
۱۹	۲-۴-۲ منابع تولید آرسنیک
۲۰	۳-۴-۲ جذب و انتقال آرسنیک در گیاهان
۲۰	۱-۳-۴-۲ سیالیت آرسنیک در خاک
۲۲	۲-۳-۴-۲ جذب آرسنیک در ریشه
۲۳	۳-۳-۴-۲ انباشت آرسنیک در ریشه

فصل سوم: مواد و روش ها	۲۵
۱-۳ زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش	۲۶
۲-۳ خصوصیات خاک گلدان	۲۶
۳-۳ مشخصات طرح آزمایشی	۲۶
۴-۳ عملیات اجرایی	۲۷
۱-۴-۳ آماده سازی گلدان ها برای کاشت و اعمال تیمارها	۲۷
۲-۴-۳ کاشت	۲۷
۳-۴-۳ داشت	۲۸
۴-۴-۳ نمونه برداری	۲۸
۵-۳ صفات زراعی و مورفولوژیک	۲۸
۱-۵-۳ ارتفاع بوته	۲۸
۲-۵-۳ طول ریشه	۲۹
۳-۵-۳ وزن خشک اندام هوایی و طول ریشه	۲۹
۶-۳ صفات فیزیولوژیکی	۲۹
۱-۶-۳ اندازه گیری کلروفیل	۲۹
۲-۶-۳ اندازه گیری میزان کربوهیدرات	۳۰
۳-۶-۳ اندازه گیری میزان آنتوسیانین و فلاونوئید	۳۰
۴-۶-۳ اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان اندام هوایی	۳۱
۱-۴-۶-۳ اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)	۳۳
۲-۴-۵-۳ فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)	۳۳
۵-۶-۳ اندازه گیری برخی عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه	۳۴
۱-۵-۶-۳ اندازه گیری میزان پتاسیم	۳۴
۲-۵-۶-۳ اندازه گیری میزان فسفر	۳۴
۳-۵-۶-۳ اندازه گیری میزان نیتروژن	۳۵
۷-۳ اندازه گیری عناصر سنگین در اندام هوایی و ریشه	۳۶
۸-۳ تجزیه و تحلیل داده ها	۳۶
فصل چهارم: نتایج و بحث	۳۷
۱-۴ رنگیزه های فتوسنتزی	۳۸
۲-۴ وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته	۴۴
۳-۴ وزن خشک و طول ریشه	۴۷
۴-۴ عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر	۵۱
۵-۴ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز	۵۵

۵۸	 ۴-۶ کادمیم و آرسنیک (بخش هوایی)
۶۱	 ۴-۷ کادمیم و آرسنیک (ریشه)
۶۳	 ۴-۸ فلاونوئید، آنتوسیانین و کربوهیدرات
۶۷	 ۴-۹ نتیجه گیری کلی
۶۸	 ۴-۱۰ پیشنهادات
۶۹	 مراجع

فهرست شکل؛

- شکل ۱-۱ الف: برگ و سرشاخه‌های گیاه بادرنجبویه (*Melisa officinalis* L.)، ب: گل‌های هرمافرودیت
ج: بذور تخم‌مرغی شکل ۵
- شکل ۱-۲ - فرایند جذب، انباشت و انتقال آرسنات و آرسنیت در ریشه (Modified from Tripathi et al.2007) ۲۴
- شکل ۱-۳ - نقشه اجرای طرح آزمایش در سه تکرار ۲۷
- شکل ۱-۴ - مقایسه میانگین اثر ساده آرسنیک و کادمیم بر میزان کلروفیل b بادرنجبویه ۴۱
- شکل ۲-۴ - مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن و طول ریشه گیاه بادرنجبویه ۴۹
- شکل ۳-۴ - مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر فسفر، نیتروژن و پتاسیم بادرنجبویه ۵۴
- شکل ۴-۴ - مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر فلاونوئید بادرنجبویه ۶۴

فهرست جداول

جدول ۳-۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر.....	۲۶
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر رنگی‌های فتوسنتزی بادرنجبویه	۳۸
جدول ۴-۲- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر رنگی‌های فتوسنتزی بادرنجبویه	۳۹
جدول ۴-۳- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته بادرنجبویه	۴۴
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته بادرنجبویه	۴۶
جدول ۴-۵- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر طول ریشه و وزن خشک ریشه بادرنجبویه	۴۷
جدول ۴-۶- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر نیتروژن، پتاسیم و فسفر ریشه بادرنجبویه	۵۱
جدول ۴-۷- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بادرنجبویه	۵۵
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بادرنجبویه	۵۶
جدول ۴-۹- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر کادمیم و آرسنیک بادرنجبویه	۵۹
جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر میزان تجمع کادمیم و آرسنیک بخش هوایی و ریشه بادرنجبویه	۶۰
جدول ۴-۱۱- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر فلاونوئید، آنتوسیانین و کربوهیدرات بادرنجبویه	۶۳
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر آنتوسیانین و کربوهیدرات بادرنجبویه	۶۶

فصل اول:

مقدمه

۱-۱ مقدمه

گیاهان به عنوان اولین حلقه تشکیل دهنده‌ی زنجیره غذایی، نقش مهمی را در زندگی بشر ایفا می‌کنند. انسان به دلیل نیازهای روزمره، به گیاهان وابستگی کامل داشته و این نیاز انسان را ملزوم نموده است تا به یاری روش‌های علمی و دانش موجود، اطلاعات بیش‌تری را در مورد گیاهان کسب نماید (هوسم کان بسر، ۱۹۹۷). ایران از لحاظ آب و هوایی، موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد و در گذشته نیز منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. دانشمندان ایرانی همانند ابوریحان، ابن‌سینا، رازی و دیگران کتاب‌هایی درباره گیاهان دارویی نوشته‌اند که مورد توجه جهانیان نیز بوده است. لذا علاوه بر اهمیت روز افزون گیاهان دارویی در سطح جهان که به سرعت پیش می‌رود تا جانشین بسیاری داروهای شیمیایی شود، صادرات این گیاهان نیز می‌تواند منبع بزرگی از درآمد ارزی برای کشور باشد. مواردی که برای صادرات این گونه کالاها وجود دارند شامل شکل رقابت، تهیه گیاهان استاندارد، خشک کردن، بسته‌بندی، بازاریابی و غیره می‌باشد. امروزه در اغلب کشورهای جهان مراکزی وجود دارد که به بررسی و مطالعه گیاهان دارویی می‌پردازند و در این راستا پیشرفت‌های زیادی نیز حاصل شده و این اعتقاد بدست آمده که برای درمان صحیح بسیاری از بیماری‌ها می‌توان از گیاهان بهره‌برداری نمود (صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. از خانواده نعنائیان^۱، گیاهی علفی، پایا، با ساقه‌ای راست که مقطع آن چهارگوش و برگ‌های متقابل آن بیضی شکل است (زمان، ۱۳۸۷). این گیاه یکی از مهم‌ترین گونه‌های گیاهان دارویی است و قسمت مورد استفاده آن برگ، سرشاخه‌های جوان و سانس گیاه است. موطن اصلی این گیاه قسمت وسیعی از شرق مدیترانه است. امروزه این گیاه در باغ‌ها تزئینی، طبی کشت می‌شود (چویل، ۲۰۰۹). امروزه از بادرنبویه در شاخه‌های مختلف

^۱. Laminaceae

(همچون پزشکی، عطر، لوازم آرایشی و بهداشتی و مواد غذایی) در بسیاری از کشورهای جهان استفاده می‌کنند (رستمی و همکاران، ۲۰۱۲).

بادرنجبویه در مقادیر کم یک داروی بادشکن است ولی مقادیر زیاد آن خاصیت خواب آور ملایم دارد. فشار خون را کمی پایین می‌آورد و تعداد نبض را کاهش می‌دهد. دمنوش آن را برای اختلالات معده، تهوع، درد شکم و تسکین حالت عصبی و درد برونشیت به عنوان خلط‌آور مصرف می‌کنند (فلوک، ۱۳۷۹).

۱-۲ تاریخچه

پرورش این گیاه حتی در زمان‌های خیلی قدیم در بین ملل مختلف جهان به منظور درمان بیماری‌ها، معمول بوده است. پزشکان و دانشمندان قدیم از آن در آثار خود نام برده‌اند؛ تئوفراست در قرن چهارم قبل از میلاد مسیح و در قرن اول میلادی پلین و کولومل از آن استفاده می‌کردند. ملیسا نخستین بار در قرون وسطی به عنوان مقوی قلب، در درمان بیماری‌ها به کار رفته است. بوعلی سینا آن را جزء گیاهان مقوی قلب می‌دانست، برای آن اثر تقویت نیروی حیاتی بدن قائل بود و چنین بیان داشته است که با مصرف آن، بی‌حوصلگی‌ها و کج خلقی‌ها از بین می‌رود (زرگری، ۱۳۶۹).

۱-۳ گیاه شناسی بادرنبویه

بادرنجبویه متعلق به شاخه‌ی دانه‌دار^۱، زیر شاخه‌ی نهاندانگان^۲، رده‌ی دو لپه‌ای‌ها^۳، زیررده‌ی پیوسته گلبرگان^۴، راسته‌ی نعنائیان^۵، خانواده‌ی نعناع^۶، جنس ملیسا و گونه‌ی officinalis می‌باشد (نخجوان پور، ۱۳۶۸).

¹. Spermatophyta

². Angiosperms

³. Magnoliopsida

⁴. Gamopetales

⁵. Lamiales

⁶. Lamiaceae

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. و نام انگلیسی Lemon Balm و با عدد کروموزوم $2n=32$ ، گیاهی علفی، چند ساله، پایا و پر شاخه و پر پشت است (سینگ، ۱۹۹۳). این گیاه ریزومدار است و روی ریزومها گرههای خاصی وجود دارد. از این گرهها استولونها (ریشه‌رست) و سایر انشعابهای ریشه‌ای به رنگ قهوه‌ای روشن خارج می‌شود. ارتفاع گیاه متفاوت است و به شرایط اقلیمی محل رویش آن بستگی دارد و بین ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر می‌باشد. ساقه مستقیم است ولی به ندرت ممکن است به صورت خوابیده روی زمین قرار گیرد (ساقه گیاهان جوان معمولاً به صورت خوابیده رشد می‌کند). ساقه‌ها همانند سایر گیاهان خانواده نعنائیان چهارگوش و مستقیم و کمی متورم در ناحیه گره‌ها می‌باشند. برگ‌های آن پهن، بیضوی و به شکل قلب، به طول ۳ تا ۶ سانتی‌متر و عرض ۳ تا ۴ سانتی‌متر، دندانه‌دار با داندانه‌های فاصله‌دار و به صورت متقابل روی ساقه قرار می‌گیرند (شکل ۱-۱). روی برگ‌ها را کرک‌های ترش‌ریز و سفید رنگی پوشانده است. رنگ برگ‌ها معمولاً در سطح فوقانی سبز تیره و در سطح تحتانی سبز روشن است و هنگامی که در دهان گذاشته شوند باعث خشک شدن دهان و ایجاد مزه گس می‌شود که به خاطر دارا بودن تانن است. برگ‌ها دارای رگبرگ‌های برجسته و ظاهری ناصاف هستند. گل‌ها هرmafrodit کامل بوده و در قسمت فوقانی گیاه قرار دارند و در خرداد تا اواسط مرداد و در زاویه بین برگ‌ها ظاهر شده و دارای رنگ‌های سفید یا گلی هستند و به تعداد ۶ تا ۱۲ تایی در محور برگ‌ها ظاهر می‌شوند (امید بیگی، ۱۳۸۷؛ عباسیان ۱۳۸۳). غنچه‌های بادرنجبویه معمولاً زرد رنگ هستند و پس از باز شدن گل‌های سفید یا بنفش تولید می‌کنند. کاسه و جام آن دارای دو لوب است که لوب بالایی دارای دو لوب و لوب تحتانی دارای سه لوب است. روی کاسه‌ی گل ۱۳ رگه قابل تشخیص است. پرچم‌ها دی-دینام (۲ بزرگ و ۲ کوچک) هستند و میوه فندقه‌ی چهار قسمتی قهوه‌ای رنگ است و طول آن ۱ تا ۱/۵ میلی‌متر است. بذر تخم‌مرغی شکل و رنگ آن تیره و براق (معمولاً سیاه رنگ) است. وزن هزار دانه بذر ۰/۶ تا ۰/۷ گرم است. چنانچه بذر این گیاه در شرایط مناسبی نگهداری شود تا چهار سال قدرت رویشی خوبی دارد (امید بیگی، ۱۳۸۷؛ عباسیان ۱۳۸۳).



شکل ۱-۱- الف: برگ و سرشاخه‌های گیاه بادرنبویه (*Melisa officinalis* L.)، ب: گل‌های

هرما فرودیت ج: بذور تخم‌مرغی شکل

۱-۳-۱ پراکنش بادرنبویه

بادرنجبویه گیاه بومی جنوب اروپا، غرب آسیا و شمال آفریقا است. این گیاه در شرایط اقلیمی مختلف رشد می‌کند اما در مناطق مرتفع و سردسیر به دلیل کوتاه شدن فصل رویش، عملکرد آن در واحد سطح کاهش می‌یابد. آب و هوای مرطوب نیز موجب کاهش عملکرد اسانس در گیاه می‌شود. گیاه نسبتاً شرایط آفتاب و سایه را تحمل می‌کند اما قادر به تحمل اراضی غرقابی نیست (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۳). در ایران بیشتر در نواحی شمال، اطراف تهران، آذربایجان و نواحی شرقی دیده می‌شود (صمصام شریعت، ۱۳۸۲). بادرنبویه در منازل نواحی شمالی ایران، به صورت خودرو رشد می‌کند (زرگری، ۱۳۷۰).

۱-۳-۲ ترکیبات شیمیایی بادرنبویه

پیکره رویشی گیاه بادرنبویه بوی خاصی تقریباً شبیه لیمو دارد. اندام‌های هوای گیاه به خصوص برگ‌ها محتوی اسانس هستند. مقدار اسانس در گونه‌های مختلف متفاوت و بین ۰/۵-۰/۲ درصد می‌باشد. اسانس گیاه بادرنبویه در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد زیادی دارد. مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه سیترونلال (۲۰ تا ۵۰ درصد)، سیترال، ژرانیول،

لینالول و استات اوژنول می‌باشد. اسانس این گیاه بسیار کم و گران قیمت می‌باشد (امید بیگی، ۱۳۸۷). در اسانس بادرنجبویه ۶۶ ترکیب اسانسی، ۳۷ مونوترپن و ۲۲ سزکویی‌ترین شناسایی گردیده است. اسانس این گیاه به مقدار کم حاوی موادی نظیر تری‌ترین‌ها، رزمارینیک اسید، فلاون گلیکوزید اسیدها، چندین فلاونوئید و برخی آلدهیدها شامل بتاکاریوفیلن، نرال و استات ژرانیل می‌باشد. اسانس این گیاه از سرشاخه‌های تازه گلدار و یا گل‌های خشک شده آن، برگ‌ها و شاخه‌های اصلی و فرعی به دست می‌آید (بهتیار بگدات، ۲۰۰۶).

۱-۳-۳ نیازهای اکولوژیکی

گیاه بادرنجبویه در طول رویش خود به هوای گرم و نور کافی نیاز داشته و از جمله گیاهان روز بلند است. ریشه گیاه نسبتاً طویل است که این گیاه را قادر به جذب رطوبت در اعماق زمین ساخته و برای مدتی می‌تواند خشکی را تحمل کند ولی کم‌آبی و خشکی‌های طولانی سبب از بین رفتن آن می‌شود (عواد و همکاران، ۲۰۰۹). بذر این گیاه در دمای ۱۲-۱۰ درجه سانتی‌گراد جوانه می‌زند، ولی دمای مناسب برای جوانه‌زنی آن ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد است. این گیاه قادر به تحمل درجه حرارت‌های پایین بوده ولی سرما تأثیر نامطلوبی بر رشد و مواد مؤثره آن باقی می‌گذارد. رویش آن در سایه سبب کاهش کمیت و کیفیت اسانس می‌شود (امید بیگی، ۱۳۷۹).

۱-۳-۴ نحوه تکثیر

تکثیر این گیاه از طریق بذر، قلمه و تقسیم بوته انجام می‌گیرد اما روش تجاری تولید آن تکثیر از طریق بذر است (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۳).

۱-۳-۵ دور آبیاری

در هر دور آبیاری باید گیاهان ۳۰-۴۰ میلی‌متر آبیاری شوند و دور آبیاری بسته به منطقه کاشت و فصل رویش متفاوت است. در ابتدای انتقال نشاء فواصل آبیاری کمتر و حدود ۳-۴ روز بوده ولی با استقرار گیاه این زمان به ۵-۷ روز افزایش می‌یابد (صمصام شریعت، ۱۳۸۲).

۱-۳-۶ نیازهای اصلی غذایی

۵۰-۷۰ کیلوگرم در هکتار کود ازت، ۵۰-۶۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفاته، ۸۰-۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود پتاس، افزودن کود اوره به صورت سرک پس از هر نوبت برداشت به رشد گیاه کمک می‌کند (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۳).

۱-۴ فلزات سنگین

فلزات سنگین عناصری سمی هستند که می‌توانند به مواد غذایی وارد شوند و سلامت افرادی که غذاهای آلوده را مصرف می‌کنند را تحت تاثیر قرار دهند. سطوح فلزات سنگین در مواد غذایی اصل مهمی برای آلودگی محیط زیست و جلب توجه در سراسر جهان به خاطر اثرات سمی آن حتی در غلظت‌های بسیار پایین، می‌باشد (محمدپورفرد و همکاران، ۲۰۱۵). آلوده شدن منابع خاک و آب به انواعی از عناصر سنگین به سبب فعالیت‌های صنعتی و پیشرفت کشاورزی در اواخر قرن ۱۹ و در ادامه آن‌ها در قرن ۲۰، امروزه به عنوان یکی از مسائل مهم زیست محیطی به شمار می‌روند. برخی از این فلزات همانند روی، نیکل و مس چون بخشی از ترکیبات آلی همانند رنگیزه‌ها و آنزیم‌ها را در گیاهان تشکیل می‌دهند، جزء عناصر ضروری برای رشد و نمو به شمار می‌روند و فقط در غلظت‌های بالاتر از نیاز فیزیولوژیکی اثرات سمی دارند (لین و ژانگ، ۲۰۱۲). برخی دیگر از این دسته از عناصر همانند کادمیم، آرسنیک و سرب که جزء فلزات غیر ضروری محسوب می‌شوند، حتی در غلظت‌های پایین نیز اثرات سمی بر گیاهان دارند. به همین دلیل، فلزات سنگین به عنوان یکی از عوامل تنش‌زا برای

گیاهان به شمار می روند (بابولا و همکاران، ۲۰۰۸). آلوده شدن منابع آب و خاک به فلزات سنگین به عنوان یک مشکل جهانی در حال گسترش محسوب می شود که در نتیجه افزایش فعالیت‌های صنعتی نظیر معدن کاوی، استخراج و ذوب فلزات، و هم چنین کاربرد کودها، سموم، قارچ کش‌های کشاورزی و غیره می باشد، که سلامتی بشری و زیست بوم را به خطر می‌اندازد (قدیر و همکاران، ۲۰۰۴).

۱-۴-۱ کادمیم

کادمیم یک فلز با سمیت زیاد بوده و ورود آن در چرخه غذایی انسان موجب نگرانی‌هایی شده است. آثار منفی این عنصر بر فعالیت‌های سلامتی انسان و حیوانات، سبب شده است که رفتار کادمیم در محیط و جنبه‌های سلامت مرتبط با آن، همچنین آثار آن بر فیزیولوژی گیاهان زراعی تا حدی توسط محققین مطالعه شده است (سینگ و میهر، ۱۹۹۸). در بین فلزات سنگین به کادمیم توجه ویژه ای شده است. زیرا به راحتی به وسیله ریشه گیاهان جذب و سمیت آن تا ۲۰ برابر بیشتر از سایر فلزات سنگین است (ثوابفی و ملکوتی، ۱۳۶۹). مسمومیت کادمیم در بسیاری از گونه‌های گیاهی موجب بازدارندگی و یا خارج شدن گیاه از روند عادی رشد می‌گردد. بعد از این که گیاه برای مدت طولانی در معرض آلودگی کادمیم قرار گرفت، ریشه‌ها موسیلاژی، قهوه ای و تجزیه شده، رشد طولی ریشه و ساقه کاهش یافته و برگ‌ها لوله‌ای و کلروزه می‌شوند. بعد از این که شکل ریشه‌ها به دلیل حضور کادمیم تغییر یافت و رنگ آنها قهوه‌ای، سفید و پیچ خورده شدند، رشد جانبی آنها نیز متوقف می‌گردد (جانسون و همکاران، ۱۹۵۷).

۲-۴-۱ آرسنیک

آرسنیک عنصری شبه فلزی است که بعنوان جزء فعال در بسیاری از آفت‌کش‌ها بکار می‌رود. این عنصر برای گیاه ضروری نیست و زمانی که در محلول خاک قرار گیرد بسهولت جذب ریشه گیاه می‌شود (بارونی و همکاران، ۲۰۰۰). بنابراین با تجمع آرسنیک در بافت‌های گیاهی علائم سمیت در

گیاهان ظاهر می شود. این عنصر سمی در بسیاری از ضایعات حاصل از فعالیت‌های انسان وجود دارد. استفاده مکرر از کودهای شیمیایی و آفت کش ها یکی از منابع اصلی ورود این عنصر به خاک است. آرسنات فرم معدنی غالب عنصر آرسنیک است که در خاک‌هایی با تهویه مناسب می‌تواند جذب ذرات خاک شود (کامپوس و فوستینو پیرس، ۲۰۰۴). یکی از اثرات سوء عناصر سنگین در گیاهان، کاهش سرعت رشد، کاهش میزان تعرق و جذب عناصر غذایی است. در بین عناصر سنگین، عناصری همانند کادمیم و آرسنیک سبب تداخل در انجام فرآیندهای جذب در ریشه شده و نیز باعث کاهش هدایت روزنه‌ای در برگ‌های گیاهان می‌شوند. در نتیجه از جذب آب و عناصر غذایی در ریشه‌ها کاسته می‌شود (بارکلو و پوسچنریدر، ۱۹۹۰).

۱-۵ اهداف پژوهش

۱- بررسی تاثیر غلظت های مختلف آرسنیک و کادمیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد گیاه

دارویی بادرنجبویه

۲- تاثیر کادمیم و آرسینک بر چگونگی رشد ریشه و نحوه تاثیر آن بر تجمع این دو عنصر در دو

بخش هوایی و ریشه و نیز ارتباط آن ها با رشد و فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاه بادرنجبویه

فصل دوم:

بررسی منابع

۲-۱ عناصر سنگین

براساس تقسیم بندی نایبر و ریچاردسون (۱۹۸۰) عناصر سنگین به تعدادی از فلزات و یون‌های آن‌ها اطلاق می‌شود که عدد اتمی آن‌ها بیش‌تر از ۲۰ باشد. از جمله عناصر سنگین می‌توان به کادمیم، روی، سرب، مس، نیکل، جیوه و کروم اشاره کرد. به صورت کاملاً تئوری هر ۱۰۰۰ کیلوگرم خاک معمولی حاوی ۲۰۰ گرم کروم، ۸۰ گرم نیکل، ۱۶ گرم سرب، ۵/۰ گرم جیوه و ۲/۰ گرم کادمیم می‌باشد. حتی محصولات زراعی تولیدی در مناطق کاملاً پاک از نظر آلودگی، عاری از فلزات سنگین نیستند (کافی و مهدی دامغانی، ۱۳۸۱). فلزات سنگین به طور طبیعی در خاک به عنوان عناصر کمیاب یافت می‌شوند. اشکال قابل استفاده بیولوژیکی فلزات سنگین در نتیجه فعالیت انسان و به صورت شیمیایی ساخته می‌شود. وجود آن‌ها در هوا، خاک و آب حتی در مقادیر ناچیز می‌تواند موجب بروز مشکلات جدی در جانداران گردد (جعفری، ۱۳۸۲).

۲-۲ تنش عناصر سنگین

فلزات سنگین از مهمترین آلاینده های محیط زیست می‌باشند و خطری جدی برای موجودات زنده محسوب می‌شوند (بودی و همکاران، ۱۹۹۵). این فلزات در غلظت‌های زیاد بر رشد، نمو و عملکرد گیاه اثر می‌گذارد (بنارویا و همکاران، ۲۰۰۴) برای مثال علی رغم اینکه امروزه نیکل یکی از عناصر کم مصرف مورد نیاز گیاهان محسوب می‌شود (بنارویا و همکاران، ۲۰۰۴) و نقش آن در رشد و به ویژه فعالیت آنزیم اوره آز به اثبات رسیده است (ویت کلاوس و همکاران، ۲۰۰۲)، ولی به عنوان یک فلز سنگین، به ویژه در غلظت های بالا، از طریق کاهش وزن تر و خشک برگ‌ها و ساقه (فونتس و همکاران، ۱۹۹۸)، همچنین تأثیر منفی بر طول ساقه (ژو، ۲۰۰۲) موجب کاهش در رشد عمومی گیاهان می‌گردد (فونتس و کاکس، ۱۹۹۸).

بروز تنش ناشی از این عناصر علائم و خسارات متعدد در گیاهان را در پی دارد. از جمله اینکه این عناصر قادر به جلوگیری از طویل شدن ریشه‌ها، کاهش فتوسنتز و فعالیت‌های آنزیمی و نیز وارد شدن

آسیب اکسیداتیو به غشاءها می‌باشد (شاه و کلیسیگ، ۱۹۹۹). این اثرات ممکن است موجب حساسیت بیشتر گیاهان به سایر تنش‌ها گردند که بیشتر در ارتباط با تأثیر فلزات سنگین بر فرآیندهای فیزیولوژیک تأثیر گذار در تنظیم آب گیاه می‌باشد. برای مثال تنش فلزات سنگین از طریق کاهش ظرفیت جذب آب در سیستم ریشه‌ای و احتمالاً بلوکه شدن روزنه‌های آبی^۱ و نیز کاهش کارایی مصرف آب، می‌تواند موجب بروز تنش خشکی در گیاه گردد (ریسر و امرسون، ۲۰۰۷). به طور کلی تأثیر ترکیب تنش‌ها می‌تواند متفاوت از تأثیر هر کدام از آن‌ها به تنهایی باشد (ریژسکی و همکاران، ۲۰۰۲).

۳-۲ کادمیم

این فلز در گروه 2B جدول تناوبی قرار دارد. ظرفیت معمولی آن II می‌باشد. عدد اتمی آن ۴۸ و دارای ۸ ایزوتوپ طبیعی و تعدادی ایزوتوپ مصنوعی است. کادمیم در طبیعت بیشتر به صورت سولفید دیده می‌شود. این فلز بسیار شبیه روی است و به مقدار اندک به همراه روی یا همراه با سنگ معادن فلزاتی نظیر سرب و مس یافت می‌شود. تمامی نمک‌های کادمیم نظیر انواعی از کمپلکس‌های کلرید کادمیم ($CdCl_2$)، سولفات کادمیم ($CdSO_4$) و یا فرم اکسید کادمیم (CdO) می‌توانند موجب ورود کادمیم به بدن گردند (جعفری، ۱۳۸۲).

۳-۲-۱ اثرات کادمیم بر بدن انسان

کادمیم فلزی بسیار خطرناک است و نقشی در متابولیسم بازی نمی‌کند. تا کنون هیچ آنزیمی یافت نشده است که به عنوان کوفاکتور به کادمیم احتیاج داشته باشد. این فلز از راه‌های متعدد می‌تواند وارد بدن گردد. به طور کلی انسان روزانه حدود ۲۰-۴۰ میکروگرم کادمیم از طریق بلع و تنفس وارد بدن می‌کند و از این مقدار انسان روزانه ۵ تا ۱۰ درصد جذب بدن می‌شود. در مجموع جذب از طریق

¹. Aquaporins

تنفس ۳۰ درصد بیشتر از جذب بلع می‌باشد (کراتنف و همکاران، ۲۰۰۸). مسمومیت حاد با کادمیم در اثر خوردن مقدار زیادی از این ماده رخ می‌دهد. هوا، آب آشامیدنی و خاک عوامل آلوده کننده‌ای می‌باشند که نسبت به غذا و سیگار از اهمیت کمتری برخوردارند. دفن زباله‌های حاوی کادمیم و استفاده از کودهای شیمیایی فسفاته موجب آلودگی خاک به این فلز می‌گردد. آب آشامیدنی نیز از طریق لحیم‌های استفاده شده در لوله‌های انتقال دهنده آب آلوده می‌شود در صورتی که آب اندکی اسیدی باشد فلز را در خود حل می‌کند. همچنین فاضلاب‌ها به ویژه فاضلاب‌های صنعتی نیز از جمله منابع مهم آلاینده آب و خاک به کادمیم می‌باشند و مخصوصاً در مناطقی که از این منابع در راستای تولید محصولات زراعی استفاده می‌گردد، می‌تواند با انتقال کادمیم به زنجیره غذایی انسان مشکلات عدیده‌ای را ایجاد نماید. کادمیم پس از ورود به جریان خون در تمام بدن پخش می‌شود اما عمدتاً در کبد و کلیه انباشته می‌گردد (جعفری، ۱۳۸۲).

۲-۳-۲ منابع تولید کادمیم

مصارف کادمیم در گذشته نسبت به زمان حال کمتر بوده است و بیشتر در تهیه آلیاژها و برای جلوگیری از فرسایش و ایجاد مقاومت در آن‌ها در برابر فرسودگی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. کادمیم با چگالی ۸/۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب، یکی از فلزات سنگین متداولی است که توسط کارخانه‌های برق، سیستم‌های گرمایی، آبکاری فلزات، لحیم‌ها، کوره‌های سوزاندن زباله‌ها، ترافیک شهری، کارخانه‌های سیمان، فرمولاسیون رنگ‌ها، ساخت باتری‌های نیکل-کادمیم، تثبیت پلی وینیل کلراید، تولید پلاستیک، ساخت اتومبیل، صنایع نظامی، صنایع هوا و فضا، قارچ کش‌ها حفاظ رآکتورهای هسته‌ای، تولید کودهای فسفاته، فرآیند معدنی شدن سنگ‌ها، تولید روغن موتور و معادن تولید می‌شود. کادمیم در محیط‌های طبیعی به صورت یک عنصر مجزا وجود ندارد بلکه بیشتر به عنوان فلز همراه دیده می‌شود (پائودیال و همکاران، ۲۰۰۷).

در سال‌های اخیر میزان استفاده از این فلز ۵ تا ۱۰ درصد افزایش یافته است. کادمیم فلزی سمی

است در عین حال از لحاظ صنعتی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. این عنصر به عنوان ماده پوششی استفاده گسترده‌ای دارد. رنگ کادمیم در طبیعت سفید، نقره‌ای و براق است اما قابلیت کدر شدن دارد (پائودیال و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۳-۳ جذب و انتقال کادمیم در گیاهان

تجمع کادمیم می‌تواند برای تمام موجودات زنده خطرناک باشد به طوری که غلظت‌های بالای آن ممکن است سرطان‌زا و جهش‌زا باشد. در محلول‌های خاک دارای غلظت‌های کادمیم ۳۵ میلی‌مولار غالباً تنها گونه‌های متراکم کننده کادمیم توان رویش دارند. برای مثال از میان گیاهان عالی از تیره شب بو، گیاه *Thlaspi caerulescens* دارای این ویژگی می‌باشد. میزان جذب کادمیم توسط گیاهان، وابسته به غلظت آن در خاک، قابلیت زیست فراهمی ترکیب، pH خاک، پتانسیل ردوکس، دما و غلظت دیگر عناصر می‌باشد. به نظر می‌رسد جذب یون‌های کادمیم با ناقل‌های عناصری مثل پتاسیم، منیزیم، کلسیم، آهن، منگنز، مس، روی و نیکل در رقابت باشد (ریسر و امرسون، ۲۰۰۷).

تکنیک‌های متعددی برای تخمین سرعت جریان عناصر سمی یا ضروری سلول‌های گیاهی ابداع شده‌اند. به عنوان مثال میکرو الکترودهای حساس به کادمیم برای اندازه‌گیری جریان کادمیم در ریشه‌های گیاهان عالی ساخته شدند. پیشنهاد شده که کادمیم پس از وارد شدن به سلول‌های ریشه از طریق بافت پوستی ابتدا از طریق مسیر آپوپلاستی^۱ یا سیم پلاستی^۲ به آوندهای چوبی می‌رسد و سپس به مولکول‌های کلات گیاهی^۳ متصل شده و در نهایت به صورت فسفات کادمیم یا کریستال‌های اگزالات کلسیم رسوب می‌کند (اورکات و نیلسن، ۲۰۰۰).

سازکارهای تحمل که مواجهه با سطح بالای کادمیم مشاهده می‌شود شامل تجمع در دیواره سلولی ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، ساخت ترکیبات کلاتی پلی‌پتیدی مانند کلات‌های گیاهی و ذخیره

^۱. Apoplast

^۲. Symplast

^۳. Phytochelatines

کادمیم به صورت کمپلکس‌های غیر قابل حل از فسفات در سلول‌های اپیدرمی ساقه می‌باشند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

۲-۳-۴ تنش کادمیم

مقدار مجاز کادمیم موجود در خاک، حداکثر ۳ پی‌پی‌ام می‌باشد اما این مقدار امروزه به دلیل فعالیت‌های انسانی رو به فزونی است (سالت و همکاران، ۱۹۹۵). تحرک بالای این فلز در سیستم خاک-گیاه توسط یافت پوست ریشه گیاه جذب می‌شود و برای انتقال به برگ‌ها در آوندهای چوبی بارگذاری می‌شود (سالت و همکاران، ۱۹۹۵).

مطالعات زیادی در مورد اثرات سمیت کادمیم بر متابولیسم گیاه صورت گرفته است. از جمله این اثرات می‌توان به کاهش جذب عناصر غذایی (ساندالو و همکاران، ۲۰۰۱)، تغییر در متابولیسم نیتروژن (بوساما و همکاران، ۱۹۹۹)، جلوگیری از فتوسنتز از طریق تأثیر بر متابولیسم کلروفیل و ساختار کلروپلاست، فعالیت فتوسیستم II و آنزیم‌های مربوط به متابولیسم کربن فتوسنتزی اشاره کرد (کرانتف و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین کادمیم از طریق تغییر در ترکیبات لیپیدی گیاه موجب تغییراتی در عملکرد غشاءهای زیستی می‌گردد و این مسئله می‌تواند موجب تأثیر بر فعالیت برخی آنزیم‌های مربوط به غشاء نظیر $H^+ - ATPase$ گردد (فودور و همکاران، ۱۹۹۵).

گونه‌های مختلف گیاهی دامنه وسیعی از انعطاف پذیری در مقابل کادمیم نشان می‌دهند. به طوری که در این میان می‌توان گونه‌هایی با حساسیت بسیار بالا تا ژنوتیپ‌هایی با قابلیت تجمع کادمیم در مقادیر بالا مشاهده نمود. برای مثال لگوم‌ها نسبت به غلات و علف‌های چمنی تحمل کمتری در برابر مسمومیت کادمیمی دارند (دات و همکاران، ۱۹۹۸).

سمیت کادمیم در گیاهان منجر به پیچیدگی برگ‌ها، کلروز و کاهش رشد ریشه و ساقه، اختلال در تعادل آبی گیاه و آسیب به تشکیلات فتوسنتزی می‌شود (کاستا و مورل، ۱۹۹۴). یکی از اثرات مخرب تنش کادمیم، تحریک تنش اکسداثیو می‌باشد که در اثر آن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)

تولید می‌گردند. ROS تولید شده در سلول‌ها در طبیعت بسیار فعال می‌باشند و باعث از بین بردن عملکرد طبیعی و متابولیسم سلول می‌شوند. کادمیم موجب افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون رداکتاز و نیز ترکیبات غیر آنزیمی نظیر آسکوبارات، گلوتاتیون و آلفا توکوفرول می‌گردد (حیات و همکاران، ۲۰۰۵). کادمیم به راحتی توسط ریشه‌ها جذب و به قسمت‌های هوایی منتقل می‌شود و در آنجا می‌تواند با مقادیر زیاد تجمع یابد.

غلظت‌های بالای کادمیم در بافت برگ به طور غیر مستقیم از طریق ایجاد اختلال متابولیکی، باعث تسهیل در ریزش برگ‌ها (واسیلو و همکاران، ۱۹۹۷)، آسیب اکسیداتیو (سوماشکارایاه و همکاران، ۱۹۹۲)، افزایش فعالیت کاتابولیک (عبدالباست و همکاران، ۱۹۹۵) یا ناکافی بودن برخی عناصر ضروری نظیر Fe یا Mg (سیدلکا و کروپا، ۱۹۹۹)، بر میزان کلروفیل تأثیر می‌گذارد. جایگزینی یون Mg مرکزی در ملکول کلروفیل با کادمیم می‌تواند مکانیسم دیگری در رابطه با تخریب کلروفیل باشد (درازیک و همکاران، ۲۰۰۶).

اثرات متعدد و متفاوت کادمیم در مطالعات مختلف را می‌توان مربوط به گونه‌های مختلف گیاهی و تیمارهای متفاوت کادمیم در آزمایش‌ها دانست. از طرف دیگر، اثرات کادمیم بر فعالیت‌های فتوسنتزی بحث برانگیز است. نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که کادمیم بازدارنده‌ای قوی برای فعالیت‌های فتوشیمیایی گلوپلاست‌ها، به ویژه فتوسیستم II می‌باشد (گرگر و اوگرن، ۱۹۹۱). تاکید می‌شود که تناقض در نتایج آزمایش‌های مربوط به اثرات کادمیم روی ساختارهای فتوسنتزی، احتمالاً با شرایط آزمایش‌ها مرتبط باشد به طوری که اعمال تیمار کادمیم از مطالعه‌ای به مطالعه دیگر متفاوت است (باریلا و همکاران، ۲۰۰۱).

۴-۲ آرسنیک

آرسنیک یک عنصر شبه فلزی است که نام آن از واژه یونانی آرسنیکون^۱ به معنی قوی گرفته شده است (توماس و همکاران، ۲۰۰۷). آرسنیک در گروه پنجم جدول تناوبی و هم گروه با نیتروژن، فسفر، آنتیموان و بیسموت قرار دارد و داری عدد اتمی و جرم اتمی ۷۴/۹ می باشد. این عنصر در حالت جامد دارای دو فرم آلوتروپی بوده که در حالت فلزی به رنگ خاکستری و در حالت غیر فلزی به رنگ زرد می باشد (سینکو و پلنت، ۱۹۶۱).

میزان آن را در خاک حدود ۱/۵ تا ۲ میلی گرم بر کیلوگرم تخمین زده اند اگر چه برای غلظت پایه آرسنیک در خاک رقم ۵ تا ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیز ذکر شده است. این شبه فلز سمی دارای دو فرم آلی و معدنی، و حالت های اکسیداسیون +۵، +۳، ۰، -۱، -۳ می باشد. حالت های عمده اکسیداسیون آرسنیک +۵ و +۳ می باشد که در حالت +۳ تشکیل اکسیدهای آرسنیک را می دهد و به آن ها آرسنیک سفید نیز می گویند، در حالت +۵ عمده ی ترکیبات، اسید آرسنیک و آرسنات ها هستند حالت اکسیداسیون -۳ نیز در ترکیب سمی آرسین (AsH_3) دیده می شود (سینکو و پلنت، ۱۹۶۱). این عنصر در ساختار بیش از ۲۰۰ ترکیب معدنی حضور دارد و در حدود ۶۰ درصد در صد آن به شکل آرسنات، ۲۰ درصد آن به شکل سولفید و نمک های گوگردار و ۲۰ درصد باقی مانده به شکل آرسنید، آرسنیت، اکسید و سیلیکات ها می باشد (اونیشی، ۱۹۶۹).

آرسنیک یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان و جانوران محسوب می شود اما با این حال می توان رد پای آن را در بافت های زنده پیدا کرد. این امر به دلیل شباهت زیاد به فسفر و رقابت با آن در هنگام جذب توسط سیستم های زنده است. آرسنیک با دخالت در واکنش های متابولیسمی نقش ممانعت کننده رشد را ایفا می کند. برای مثال می توان به دخالت آرسنات در واکنش فسفریلاسیون میتوکندری

¹. Micro Nutrient

یا واکنش آرسنیت با گروه سولفیدریل خیلی از آنزیم‌ها اشاره کرد که باعث غیر فعال شدن آن‌ها می‌شود (تائو و همکاران، ۲۰۰۶).

۲-۴-۱ اثرات آرسنیک بر بدن انسان

آرسنیک به داخل بدن از راه‌های مواد غذایی، هوا، آب آشامیدنی و خاک وارد می‌شود و دارای اثرات نامطلوب و آسیب‌زا بر روی ارگان‌های مختلف بدن می‌باشد (پرازا، ۲۰۰۳؛ جانا و سامانتا، ۲۰۰۶). طبق تحقیقات به عمل آمده مشخص شده است که آرسنیک در انسان به عنوان یکی از فاکتورهای سرطان‌زا محسوب می‌شود (چاترجی و همکاران، ۱۹۹۵). مصرف زیاد آرسنیک می‌تواند باعث ایجاد آسیب‌های کلیه، کبد، روده و مغز شود و حتی مصرف مزمن آن نیز می‌تواند باعث ایجاد اختلالات عملکردی در سیستم عصبی و کلیوی شود (کیمورا و همکاران، ۲۰۰۶).

۲-۴-۲ منابع تولید آرسنیک

مطالعات صورت گرفته روی منابع تولید آرسنیک نشان می‌دهد که این عنصر در محیط به دو شکل طبیعی و مصنوعی یافت می‌شود. بر این اساس آرسنیک معدنی به‌طور طبیعی در خاک، سنگ‌ها، صخره‌ها و یا به صورت سنگ معدن و کانی‌هایی که همراه مس، سرب، طلا، نقره و سایر فلزات می‌باشند، یافت می‌شود و هنگامی که این صخره‌ها و سنگ‌ها دچار فرسایش می‌شوند بیشتر آرسنیک را وارد آب، هوا و پوسته‌ی زمین می‌کنند. همچنین فعالیت‌های آتشفشانی یکی دیگر از منابع مهم تولید آرسنیک به شمار می‌رود. علاوه بر این، فعالیت‌های صنعتی نیز از منابع تولید آرسنیک محسوب می‌شوند. چنانکه در کارخانه‌های ذوب سنگ‌های معدنی، آرسنیک با ترکیبات دیگر باند شده و ایجاد تری‌اکسید (As_2O_3) کرده و وارد محیط می‌شود. از دیگر راه‌های ورود آرسنیک به محیط زیست می‌توان به سوختن سوخت‌های فسیلی به ویژه زغال سنگ، استفاده از آفت‌کش‌ها و حشره‌کش‌های کشاورزی، پساب‌های صنایع متالورژی، پالایشگاه‌های نفت، کارخانه‌های رنگ‌سازی، تولیدکننده‌های کودهای شیمیایی، صنایع شیشه‌سازی، چینی و سرامیک، شوینده‌ها و محافظت

کننده‌های چوب اشاره کرد (وهو، ۱۹۹۸).

۲-۴-۳ جذب و انتقال آرسنیک در گیاهان

۲-۴-۳-۱ سیالیت آرسنیک در خاک

مهمترین عامل موثر در جذب آرسنیک قابلیت دسترسی آن برای گیاهان می‌باشد. اما در کنار این عامل فاکتورهایی مانند میزان جذب آرسنیک، انتقال و تجمع آن در گیاهان نیز دارای اهمیت می‌باشد (مهرگ، ۱۹۹۴). فاکتورهایی دیگری نیز در سیالیت و جذب عناصر خاک نقش دارند و بر شرایط بیوژئوشیمیایی ریزوسفر اثرگذار هستند که می‌توان به ظرفیت تبادل کاتیونی^۱، اسیدیته، ماده آلی، دما، هوادهی خاک، شرایط ردکس خاک، اکسیدهای آهن، منگنز، میکوریزها و مواد مترشحه از ریشه گیاهان اشاره کرد (کلمنته و همکاران، ۲۰۰۸).

ظرفیت تبادل کاتیونی مهم‌ترین فاکتور تنظیم کننده، در دسترسی آرسنیک خاک می‌باشد. با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی در خاک، غلظت آرسنیک قابل دسترس افزایش می‌یابد (مور و همکاران، ۱۹۹۵). از آنجایی که کاتیون‌های فلزی با تشکیل پیوند با ذرات خاک از دسترس گیاه خارج می‌شوند و از سوی دیگر هر یک از این کاتیون‌ها دارای میل ترکیبی متفاوت برای تشکیل پیوند با ذرات خاک می‌باشند، لذا در خاک‌های غنی از فسفر به علت میل ترکیبی پایین آرسنیک برای تشکیل پیوند با ذرات خاک در مقایسه با فسفر، میزان آرسنیک در دسترس افزایش می‌یابد (گونس و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین اسیدیته خاک بر روی ظرفیت تبادل کاتیونی اثرگذار می‌باشد و در pH پایین، یون‌های هیدروژن محکم‌تر با ذرات خاک پیوند برقرار کرده و به این شکل منجر به دسترسی سایر کاتیون‌ها از جمله آرسنیک برای گیاهان می‌شود. مواد آلی مترشحه از ریشه گیاهان و اسیدهای آلی با وزن مولکولی پایین نیز با همین مکانیزم می‌توانند محیط ریزوسفر را اسیدی کنند و تحرک مواد غذایی را در خاک افزایش دهند (مارچنر، ۱۹۹۵). اسیدهای آلی با وزن مولکولی پایین مانند

¹. Cation Echange Capacity

کربوکسیلیک اسید^۱، سیتریک اسید^۲ و مالیک اسید^۳ به صورت گسترده در خاک وجود دارند و چنانکه اشاره شد حاصل ترشحات ریشه، تجزیه‌ی باقی‌مانده‌های گیاهی و متابولیسم میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. اگرچه به شکل کلی دارای عمر کوتاهی هستند اما به صورت پیوسته تولید می‌شوند. این ترکیبات در بسیاری از فرآیندهای خاک مانند تحرک، سیالیت و برداشت عناصر غذایی توسط گیاهان و همچنین سم‌زدایی عناصر فلزی، تکثیر میکروبی در ریزوسفر و هدایت مواد معدنی در خاک دخالت دارند (تائو و همکاران، ۲۰۰۶).

با آنکه اطلاعات اندکی درباره‌ی تحرک و سیالیت آرسنیک یا تجمع و عدم تحرک آن در گیاهان وجود دارد اما شباهت فسفر و آرسنیک یک تعامل پویا بین آرسنات و فسفات در محیط ریزوسفر نشان می‌دهد. چنانکه اشاره شد تعداد زیادی از گیاهان مکانیزم فعالی برای پمپ کردن اسیدهای آلی از ریشه به محیط ریزوسفر دارند که باعث تحرک بیشتر فسفر می‌شود. این سیالیت و تحرک فسفر در اثر تغییر pH می‌باشد که توسط اسیدهای آلی ترشح شده از ریشه اعمال می‌گردد. اسیدهای آلی فسفات را از موقعیتی که در خاک دارد رها می‌کنند و سپس با ایجاد کلات‌های فلزی باعث تجمع فسفات می‌شوند. فسفر حل شده در محلول خاک توسط ریشه‌ی گیاهان جذب می‌شود (فیتز و ونزل، ۲۰۰۲). نتایج برخی مطالعات افزایش جذب دو یا سه برابری فسفر را در نمونه‌های آلوده به میکوریز در مقایسه با سایر گیاهان نشان می‌دهد. باتوجه به آنکه آرسنیک و فسفر آنالوگ شیمیایی هم می‌باشند پس این فرایند به شکل مشابه برای آرسنیک نیز اتفاق می‌افتد (ونزل و همکاران، ۲۰۰۲). اما در کنار این نتایج گزارشاتی مبنی بر کاهش جذب آرسنیک در تعدادی از گونه‌های گیاهی در حضور میکوریزها نیز وجود دارد که می‌توان به سرخس، عدس، گوجه‌فرنگی، ذرت، آفتابگردان اشاره کرد (چن و همکاران، ۲۰۰۷؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۵).

درباره‌ی چگونگی اثرگذاری ماده‌ی آلی خاک به عنوان یک فاکتور تاثیرگذار بر روی آرسنیک

^۱. Carboxylic acid

^۲. Citric acid

^۳. Malic acid

نظرات متفاوتی وجود دارد. در برخی از مطالعات به کارگیری ماده‌ی آلی باعث کاهش تحرک و پویایی آرسنیک شده در حالی که تحقیقات دیگری آزادسازی آرسنیک را پس از به کارگیری کمپوست^۱ گزارش داده‌اند (کلمنته و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات اخیر نشان داده فولیک اسید و هیومیک اسید باعث کاهش ظرفیت ابقاء آرسنیک در خلال رقابت‌های الکترواستاتیک داخل محلول می‌شوند بنابراین ماده آلی می‌تواند با آرسنیت و آرسنات برای ابقا در خاک رقابت کند (برنال و همکاران، ۲۰۰۹).

۲-۳-۴-۲ جذب آرسنیک در ریشه

به طور کلی جذب آرسنیک در گیاهان توسط ریشه انجام می‌شود اما در گیاهان غوطه‌ور در آب ممکن است برگ‌ها نیز در جذب آرسنیک نقش داشته باشند. بر این اساس جذب آرسنیک در گیاهان وابسته به زیستگاه و گونه گیاهی می‌باشد (ولترتیک و وان دمر، ۲۰۰۲). جذب عناصر در ریشه ابتدا با انتشار از محلول خاک به فضای آپوپلاستی^۲ و سپس ورود به سلول از طریق مسیر سیمپلاستی^۳ می‌باشد (منگل و کرکی، ۲۰۰۱). عبور آنیون‌ها از غشای سلول به کمک پروتئین‌های ناقلی صورت می‌گیرد که اغلب یک یا چند عنصر مشابه را عبور می‌دهند. ناقل‌های غشایی که در جذب و انتقال آرسنیک از غشای سلول نقش دارند شامل آکوپورین‌ها^۴ و ناقلین فسفات می‌باشند. نتایج مطالعات فیزیولوژیک در گیاهان نقش ناقل‌های فسفات را برای جذب آرسنات در سطح ریشه تایید کرده (مهرگ و همکاران، ۱۹۹۲) و از سوی دیگر آکوپورین‌ها را محتمل‌ترین مسیر انتقال آرسنیت در ریشه می‌دانند (ما و همکاران، ۲۰۰۸).

آکوپورین‌ها متعلق به یک گروه از پروتئین‌های غشایی به نام MIP^۵ می‌باشند و تاکنون بیش از ۵۰ عضو از این خانواده در گیاهان، باکتری‌ها، مخمرها، حشرات و مهره‌داران شناسایی شده است. آکوپورین‌ها کانال‌هایی هستند که به مقدار زیاد برای انتقال آب اختصاص یافته و به صورت انتخابی

^۱. Compost

^۲. Apoplast Pathway

^۳. Symplast Pathway

^۴. Aquaporins

^۵. Major intrinsic proteins

آب را منتقل می‌کنند. البته گزارش‌هایی نیز وجود دارد که برخی از کانال‌های پروتئینی متعلق به خانواده MIP در گیاهان، آب، یونها و گلیسرول^۱ را نیز منتقل می‌کنند. از آکوپورین‌هایی که در گیاهان شناسایی شده می‌توان به آکوپورین RD28 اشاره کرد که در غشای پلاسمایی تمام سلول‌های گیاهی به‌جز دانه وجود دارد این پروتئین به فشار تورژسانس حساس می‌باشد و یا آکوپورین NOD26 که علاوه بر نفوذپذیری به آب، به گلیسرول نیز نفوذپذیر است (شریعتی، ۱۳۸۶). بنابراین گروهی از آکوپورین‌ها (NIP^۲) نقش مهمی را در جذب مولکول‌های غیر باردار مانند گلیسرول، آمونیاک^۳، بوریک اسید، آرسنیک اسید و سیلیک اسید^۴ دارند (ژائو و همکاران، ۲۰۰۹). مکانیزم جذب و انتقال فسفات آرسنات از طریق انتقال همراه^۵ صورت می‌گیرد و در این انتقال، ناقل آنیون پروتون به ازای انتقال هر آنیون، دو پروتون (H^+) را جابه‌جا می‌کند (ژائو و همکاران، ۲۰۰۹). اشکال آلی آرسنیک دارای جذب پایین‌تری نسبت به فرم معدنی آن در ریشه می‌باشند (ژائو و همکاران، ۲۰۰۹). احتمالاً ناقل‌های سیلیسیوم در انتقال اشکال آلی آرسنیک نقش داشته باشند (یاداو، ۲۰۰۹). اما با این حال انتقال اشکال آلی آرسنیک مانند منومتیل آرسنیک و دی‌متیل آرسنیک به بخش‌های هوایی در مقایسه با آرسنات و آرسنیت بیشتر صورت می‌گیرد (کاربونل، ۱۹۹۹).

۲-۴-۳ انباشت آرسنیک در ریشه

در سلول‌های ریشه آرسنات به آرسنیت تبدیل شده و برای این احیاء شدن گلوکاتایون مصرف می‌شود. این واکنش را آنزیم احیاء‌کننده^۶ کاتالیز می‌کند (وربروگن و همکاران، ۲۰۰۹). بنابراین عمده‌ی آرسنیک سلول‌های گیاهی به صورت آرسنیت می‌باشد، صرف نظر از این که گیاه در چه

^۵. Glycerol

^۱. Nodulin26-like Intrinsic Proteins

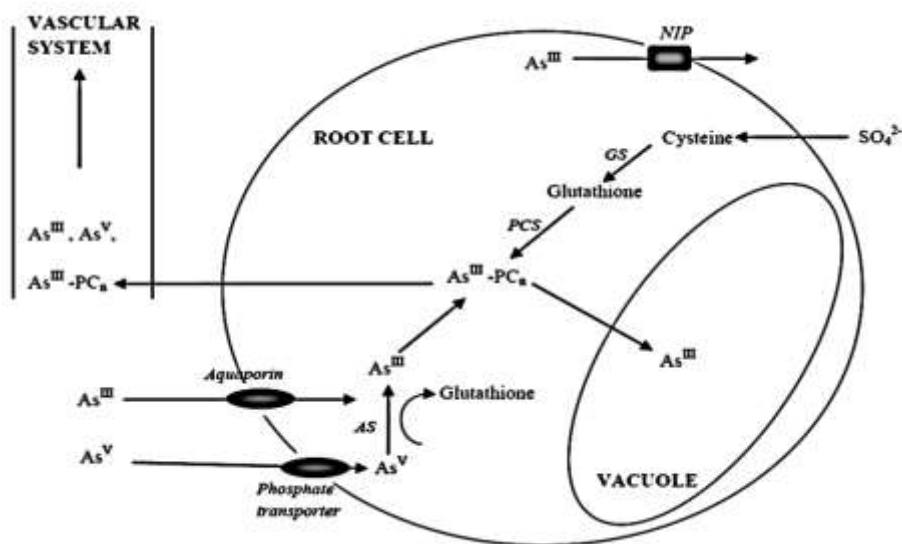
^۲. Ammonia

^۳. Silic acid

^۴. Cotransport

^۵. Arsenat reductase

مرحله‌ای از رشد است (تریپاتی و همکاران، ۲۰۰۷). آرسنیت تمایل بالایی به گروه‌های تیولی، تشکیل کمپلکس و انبار شدن در واکوئل دارد اگرچه می‌تواند از طریق آوندهای چوبی به سایر بافت‌های گیاهی انتقال یابد (ژائو و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین دیده شده در برخی گیاهان به دنبال احیاء آرسنات به آرسنیت در سلول‌های ریشه، آرسنیت به محیط پیرامون ریشه انتشار می‌یابد. در این ارتباط می‌توان به گندم، برنج، جو، ذرت، گوجه‌فرنگی اشاره کرد (سو و همکاران، ۲۰۰۸). (شکل ۲-۱) نحوه‌ی جذب، انباشت و انتقال آرسنیک در ریشه را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۱- فرایند جذب، انباشت و انتقال آرسنات و آرسنیت در ریشه (Modified from)

(Tripathi et al.2007)

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱ زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش

این آزمایش به صورت گلدانی در بهار و تابستان ۱۴۰۰ در مجتمع آموزش عالی شیروان به اجرا در آمد. شهرستان شیروان با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۰ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۹۳ دقیقه با ارتفاع ۱۰۹۷ متری از سطح دریا و میانگین بارندگی سالیانه منطقه ۲۴۱ میلی‌متر، میانگین دمای سالانه ۱۷ درجه سلسیوس است و از لحاظ اقلیمی جزء مناطق معتدل و کوهستانی و وزش بادهای در آن بیشتر در جهت شرقی به شمال غربی است، انجام شد.

۳-۲ خصوصیات خاک گلدان

برای تعیین نمونه خاک محل آزمایش، قبل از آماده سازی خاک گلدان ها از ۱۵ نقطه مزرعه از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر به طور تصادفی نمونه برداری انجام شد و پس از مخلوط کردن نمونه‌ها یک کیلوپی جهت تعیین خصوصیات شیمیایی و فیزیکی به آزمایشگاه منتقل شد نتایج آزمون خاک به صورت (جدول ۳-۱) می باشد.

جدول ۳-۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر

بافت خاک	هدایت	درصد	اسیدتیة	کربن	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	TEXTUR		
								الکتریکی	اشباع	pH
رس	سیلت	شن	EC(ds.m ⁻¹)	%Sp	%OC	%N	(ppm)P	(ppm)K	آلی	
(%)	(%)	(%)								
۴۸	۳۷	۱۴	۲/۸۱	۴۲/۴۸	۷/۸۷	۰/۲۴۳	۰/۰۲۷	۱۵/۰۸	۴۲۳	

۳-۳ مشخصات طرح آزمایشی

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بصورت گلدانی در مجتمع آموزش عالی شیروان انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح آرسنیک به

مقدار $A_1=0$ ، $A_2=10$ ، $A_3=20$ و $A_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع آرسنات سدیم و چهار سطح کادمیم به مقدار $C_1=0$ ، $C_2=10$ ، $C_3=20$ و $C_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات کادمیم لحاظ بودند. غلظت های مختلف اعمال شده در نقشه طرح (شکل ۳-۱) نشان داده شده است.

I	C2A1	C3A4	C4A3	C4A2	C2A3	C1A2	C3A2	C4A4	C2A4	C4A1	C1A1	C3A1	C1A3	C3A3	C1A4	C2A2
II	C3A1	C3A4	C1A1	C2A3	C2A4	C1A4	C1A2	C4A1	C4A3	C2A2	C2A1	C1A3	C3A2	C4A2	C4A4	C3A3
III	C2A3	C1A3	C2A2	C4A2	C4A3	C1A2	C1A4	C1A1	C4A1	C3A3	C4A4	C3A1	C2A4	C3A2	C3A4	C2A1

شکل ۳-۱- نقشه اجرای طرح آزمایش در سه تکرار

($A_1: 0$ ، $A_2: 10$ ، $A_3: 20$ ، $A_4: 30$) میلی گرم بر کیلوگرم خاک از منبع آرسنات سدیم

($C_1: 0$ ، $C_2: 10$ ، $C_3: 20$ ، $C_4: 30$) میلی گرم بر کیلوگرم خاک از منبع سولفات کادمیم

۳-۴ عملیات اجرایی

۳-۴-۱ آماده سازی گلدان ها برای کاشت و اعمال تیمارها

مجموع ۴۸ گلدان با قطر ۱۳/۵ سانتی متر، ارتفاع ۱۱ سانتی متر و قطر زیرین ۱۰/۵ سانتی متر برای انجام آزمایش تهیه گردید، مقدار ۱ کیلوگرم خاک از ترکیب خاک مزرعه، ماسه بادی و پرلیت به نسبت ۱:۱:۲ پر شدند. براساس تیمار آزمایش میزان آرسنیک و کادمیم و همچنین کودهای NPK براساس وزن خاک گلدان ها تهیه و قبل از کاشت به خاک اضافه شدند. ضمناً خاک ها تا یک هفته در این وضعیت نگهداری، همچنین در کف گلدان ها مقداری شن درشت به عنوان زهکشی ریخته شد.

۳-۴-۲ کاشت

عملیات کاشت نشاء بادرنبویه در مرحله چهار برگی در تاریخ ۴ خرداد ۱۴۰۰ به تعداد ۸ الی ۹

بوته در گلدان‌های با تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح آرسنیک به مقدار $A_1=0$ ، $A_2=10$ ، $A_3=20$ و $A_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع آرسنات سدیم و چهار سطح کادمیم به مقدار $C_1=0$ ، $C_2=10$ ، $C_3=20$ و $C_4=30$ میلی گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات کادمیم انجام شد. گلدان‌ها تا پایان فصل رشد در فضای آزاد نگهداری شدند.

۳-۴-۳ داشت

اولین آبیاری یک روز بعد از انتقال نشاء به مقدار ۱۱۰ میلی لیتر برای هر گلدان انجام شد. برای جلوگیری از آبهویی خاک گلدان‌ها، آبیاری را تا ۸۰٪ ظرفیت زراعی به روش داسیلوا و همکاران (۱۹۹۴) محاسبه شد که طبق این محاسبات مقدار ۳۰۰ میلی لیتر آب دو روز در میان به گلدان‌ها داده می‌شدند تا با آبیاری وزن آن‌ها به ۳ کیلوگرم برسد. همچنین علف‌های هرز رشد یافته در داخل گلدان به صورت دستی برداشته شدند.

۳-۴-۴ نمونه برداری

عمل نمونه برداری در مرحله ۱۰ الی ۱۲ برگی گیاه در اواسط مرداد ماه ۱۴۰۰ انجام شد. که نمونه‌ها در فلاسک پر از یخ خشک قرار داده شد و به آزمایشگاه مجتمع آموزش عالی شیروان جهت انجام آزمایشات منقل شد. نمونه‌های مربوطه در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

۳-۵ صفات زراعی و مورفولوژیک

۳-۵-۱ ارتفاع بوته

به هنگام برداشت، تعداد ۳ بوته از ۹ بوته هر گلدان انتخاب و اقدام به اندازه گیری ارتفاع بوته بر حسب سانتی متر گردید. سپس از ارتفاع این بوته‌ها میانگین گرفته شد و عدد نهایی ثبت گردید.

۳-۵-۲ طول ریشه

پس از برداشت و جدا کردن ریشه از اندام هوایی، ریشه‌های مربوط به ۳ بوته در هر ترکیب تیماری از هر تکرار (گلدان) بیرون آورده شد، کاملاً شسته و در آون خشک شد، طول ریشه به وسیله خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری گردید. و میانگین طول ریشه به عنوان عدد نهایی ثبت گردید.

۳-۵-۳ وزن خشک و تر اندام هوایی و ریشه

پس از جدا کردن اندام هوایی و ریشه از یکدیگر، وزن هر یک بر حسب گرم با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در پاک قرار داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در آون با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و وزن خشک نمونه‌ها با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند.

۳-۶-۶ صفات فیزیولوژیکی

۳-۶-۱ اندازه‌گیری کلروفیل

محاسبه غلظت کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید در مرحله ۱۰ الی ۱۲ برگی گیاه با استفاده از روش (آرنون، ۱۹۶۷) انجام شد. در این روش ۰/۱ گرم از بافت تر بخش هوایی توزین و همراه با استون ۸۰٪ در هاون ساییده شد. محتوای هاون در لوله فالدکون تخلیه و به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با تنظیم سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. جذب محلول بالایی فالدکون، در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷، ۴۷۰ نانومتر، به ترتیب برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد در نهایت مقدار آن‌ها، با استفاده از فرمول زیر بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

$$C_a = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{647}) / 100W \quad (1-3)$$

$$C_b = (19.3 \times A_{647} - 3.6 \times A_{663}) / 100W \quad (2-3)$$

$$C_{x+c} = 100(A_{470}) - 3.27(C_a) - 104(C_b) / 227 \quad (3-3)$$

C_a مقدار کلروفیل a ، C_b مقدار کلروفیل b ، C_{x+c} مقدار کل کارتنوئید، W وزن تر نمونه بر حسب گرم در تک بوته و A جذب نور در طول موج‌های مربوط می‌باشند.

۳-۶-۲ اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات

جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات برگ با استفاده از اتانول ۹۵٪ و بر اساس روش اسید سولفوریک میزان کربوهیدرات برگ یا ریشه استخراج شد (ایریگوین و همکاران، ۱۹۹۲). در این روش ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ داخل لوله‌های آزمایش استریل شده، قرار گرفت. سپس به هر کدام ۱۰ سی‌سی الکل اتانول ۹۵٪ اضافه گردید، به مدت یک ساعت در حمام بن ماری ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس یک سی‌سی از محلول سبز رنگ به دست آمده با یک سی‌سی (۱ گرم فنل جامد که در ۲۰۰ سی‌سی آب به حجم رسانده شد) و ۵ سی‌سی اسید سولفوریک (۹۸-۹۵٪) مخلوط و پس از سرد شدن محلول، جذب در طول موج ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. در انتها میزان کربوهیدرات نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه گردید.

۳-۶-۳ اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین و فلاونوئید

به منظور تعیین میزان آنتوسیانین، از روش کریزک و همکاران (۱۹۹۸) استفاده گردید. در این روش ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ در هاون همراه با ۵ سی‌سی متانول اسیدی (۱۹۸ میلی‌لیتر متانول + ۲ میلی‌لیتر اسید کلریک) که به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت، کاملاً ساییده و عصاره در فالتون ریخته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و جذب محلول بالایی در طیف جذبی ۵۵۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت و اندازه‌گیری شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از رابطه زیر بدست می‌آید.

$$A = \epsilon bc \quad (3-4)$$

در رابطه فوق، ϵ ضریب خاموشی معادل 3300 mM.cm^{-1} ، A میزان جذب خوانده شده در 550 نانومتر، b عرض سلول مورد استفاده برابر 1 سانتی متر و C مقدار آنتوسیانین بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر بافت گیاهی می باشد.

برای سنجش میزان فلاونوئید، 0.5 گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی حاوی 3 میلی لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت 99 به 1) ساییده و به مدت 15 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور 4000 قرار گرفت. پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت 10 دقیقه در حمام بن ماری با دمای 80 درجه قرار داده شد. میزان جذب نمونه ها پس از سرد شدن با توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 300 نانومتر میزان فلاونوئید قرائت گردید. سپس با استفاده از فرمول زیر محاسبه بر حسب درصد جذب ($\% \text{ absorbance}$) بیان شد (کریزک و همکاران، 1998).

$$100 \frac{V}{700} Fla = ABS (300 \text{ nm}) \quad (3-5)$$

۳-۶-۴ اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان اندام هوایی

روش محلول سازی

در ابتدا طبق فرمول $CM = C/M$ (که در آن CM مولاریته، C غلظت و M جرم مولکولی ماده می باشد) مقدار 1000 میلی لیتر محاسبه شده، پس باید مقدار آن در 100 میلی لیتر ضرب شود. مواد و مقادیر مورد نیاز:

1 مولار $KH_2PO_4 = 13/609$ گرم در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد.

1 مولار $K_2HPO_4 = 17/418$ گرم در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد.

1 مولار $NaH_2PO_4 = 15/601$ گرم در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد.

1 مولار $Na_2HPO_4 = 14/195$ گرم در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد.

0.1 مولار $EDTA = 2/9225$ گرم در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد.

$H_2O_2 = 1$ میلی لیتر در ۹۹ میلی لیتر آب مقطر حل شد (۱ درصد حجمی).

گایاکول = ۲ میلی لیتر در ۹۸ میلی لیتر آب مقطر حل شد (۲ درصد حجمی).

برای انجام این آزمایش ابتدا استوک‌های اصلی (شامل بافرهای فسفات پتاسیم (ice-cold) و فسفات سدیم) به شیوه زیر ساخته شدند (بیر و سیزر، ۱۹۵۲).

روش آماده سازی بافر فسفات پتاسیم:

این بافر از دو نمک KH_2PO_4 و K_2HPO_4 تهیه می‌شود. ابتدا محلول یک مولار از هر کدام این نمک‌ها در حجم ۱۰۰ میلی لیتر ساخته شده و سپس ۲۵ میلی لیتر از هر کدام برداشته، مخلوط و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و در مرحله بعد pH این محلول روی ۷ تنظیم گردید (بیر و سیزر، ۱۹۵۲).

روش آماده سازی بافر فسفات سدیم:

این بافر از دو نمک NaH_2PO_4 و Na_2HPO_4 تهیه می‌شود. ابتدا محلول یک مولار از هر کدام این نمک‌ها در حجم ۱۰۰ میلی لیتر ساخته شده و سپس ۲۵ میلی لیتر از هر کدام برداشته، مخلوط و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و در مرحله بعد pH این محلول روی ۷ تنظیم گردید (بیر و سیزر، ۱۹۵۲).

تهیه عصاره آنزیمی:

۰/۲ گرم از نمونه گیاهی وزن و سپس در هاون گذاشته شد و به آن ۴ میلی لیتر بافر ice-cold اضافه شد و کاملاً ساییده شد تا بصورت همگن درآید و در ۱۶۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (بیر و سیزر، ۱۹۵۲).

۳-۶-۴-۱ اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

جهت تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز، ۵۰ میکرو لیتر (۰/۰۵ سی سی) عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات سدیم (pH=۷)، ۰/۱۵ میکرو لیتر EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرو لیتر آب را در تیوپ ریخته و سپس ۳۰۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد. بلافاصله پس از افزودن آب اکسیژنه، جذب نور توسط دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید و پس از سپری شدن مدت زمان ۱ دقیقه بار دیگر میزان جذب خوانده شد. تغییر جذب به دست آمده در زمان ۱ دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $36 \text{ Mm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ است تقسیم شد و سپس میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول H_2O_2 در دقیقه بر میلی گرم پروتئین بیان شد (پیرا و همکاران، ۲۰۰۲).

۳-۶-۴-۲ فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۸)، متیونین ۰/۰۱۳ مولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ریوفلاوین ۲ میکرومولار می باشد که در تاریکی کامل نگهداری شد. بلافاصله پس از اضافه کردن ریوفلاوین، ۳ میلی لیتر از آن را درون لوله آزمایش ریخته و به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر نمونه عصاره پروتئینی اضافه شد. لوله های آزمایش به مدت ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی متری از منبع نور (5000 LUX) قرار گرفتند و در این فاصله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط محلول تاریکی به عنوان شاهد تنظیم شد. پس از ۱۶ دقیقه جذب نمونه ها در طول موج مذکور خوانده شد. از آنجائیکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از میزانی از آنزیم که ۵۰ درصد بازداشت ایجاد می کند، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه ها محاسبه گردید (گیانوپولیتس و ریس، ۱۹۹۷).

۳-۶-۵ اندازه‌گیری برخی عناصر غذایی در اندام هوایی گیاه

۳-۶-۵-۱ اندازه‌گیری میزان پتاسیم

برگ‌ها پس از برداشت گیاهان در مرحله ۱۰ الی ۱۲ برگ، گیاهان در سایه خشک شدند. برگ‌های خشک شده آسیاب گردید و سپس الک شده مقدار ۰/۵ گرم از برگ الک شده را وزن کرده، در کوزه‌ها ریخته در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت قرار گرفتند. پس از خروج از کوره و کمی خنک شدن چند قطره آب مقطر برای مرطوب شدن به نمونه‌ها اضافه شد. سپس میلی‌لیتر HCL دو نرمال به هر نمونه افزوده و پس از نیم ساعت، از کاغذ صافی عبور داده شدند. هر نمونه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس استانداردهای پتاسیم تهیه گردید. ابتدا این استانداردها، و سپس نمونه‌های اصلی با استفاده از دستگاه فیلم فتومتر قرائت گردید (تنینگ هاف و هوپا، ۲۰۰۴).

برای تهیه استاندارد، ۹/۵۳ گرم از کلریدپتاسیم را در کمی آب حل کرده و در بالن ژوژه یک لیتری به حجم می‌رسانیم (استاندارد غلیظ). سری محلول‌های استاندارد ۰، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ میلی‌لیتر از استاندارد غلیظ برداشته و در بالن ژوژه‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری که قبلاً به هر کدام ۵۰ میلی‌لیتر آب و ۴/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شده است ریخته و به حجم می‌رسانیم.

۳-۶-۵-۲ اندازه‌گیری میزان فسفر

برگ‌ها پس از برداشت گیاه، در سایه خشک شدند. برگ‌های خشک شده آسیاب گردید و سپس الک شده مقدار ۰/۵ گرم از برگ الک شده را وزن کرده، در کوزه‌ها ریخته در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت قرار گرفتند. پس از خروج از کوره و کمی خنک شدن چند قطره آب مقطر برای مرطوب شدن به نمونه‌ها اضافه شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر HCL دو مولار به هر نمونه افزوده و پس از نیم ساعت، از کاغذ صافی عبور داده شدند. هر نمونه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۲۲۰ گرم آمونیوم هپتامولیدات را در ۴۰۰ میلی‌لیتر آب ۱/۲۵ گرم آمونیوم

وانادات ۳۰۰ میلی‌لیتر آب جوش حل شده و بعد این دو محلول با هم مخلوط کرده و با ۲۵۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ و آب مقطر یک لیتر رسانده. محلول حاصله را محلول زرد می‌نامند. در ادامه کار پنج میلی‌لیتر از هر نمونه را برداشته و با پنج میلی‌لیتر محلول زرد مخلوط و به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از سپری شدن نیم ساعت، در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر ابتدا استانداردهای فسفر و سپس نمونه‌های اصلی قرائت گردید (تنینگ هاف و هوبا، ۲۰۰۴).

برای استاندارد، ۲/۱۹ گرم KH_2PO_4 را در آب مقطر حل کرده و حجم آن را به یک لیتر می‌رسانیم. مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محلول را برداشته و مجدداً حجم آن را به یک لیتر می‌رسانیم. حال استاندارد ۵۰ حاصل شده است. سپس از استاندارد حاصله، مقدار ۰، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ را برداشته پنج میلی‌لیتر محلول آمونیوم مولیبدات روی آن اضافه نموده و حجم را به ۲۵ میلی‌لیتر می‌رسانیم.

۳-۵-۶- اندازه‌گیری میزان نیتروژن

یک گرم از نمونه گیاهی آسیاب شده را همراه با قرص کاتالیزور و ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک در لوله‌ها ریخته و در دستگاه کج‌دال قرار گرفتند. دمای دستگاه را روی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و پس از رسیدن به این دما نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در این دما ماندند. پس از سپری شدن این مدت، دمای دستگاه را روی ۴۱۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و از زمانی که دمای دستگاه به ۴۱۰ رسید به مدت یک و نیم ساعت زمان می‌گیریم. سپس نمونه‌ها را خارج کرده و بعد از خنک شدن به هر کدام ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و در دستگاه هضم قرار داده شدند. پس از اضافه شدن سود سوزآور در دستگاه، نمونه‌ها از دستگاه کج‌دال خارج و با اسید سولفوریک تیترازول ترکیب شدند. مقدار اسید مصرف شده در تیتراسیون را در فرمول زیر گذاشته و میزان نیتروژن مشخص می‌شود (دوپریز و بیل، ۱۹۸۹).

$$(۳-۶) \quad \{ \text{وزن نمونه} / (۰.۰۱۴ \times \text{مقدار اسید استفاده شده در تیتراسیون}) \} = \text{درصد نیتروژن}$$

۳-۷ اندازه‌گیری عناصر سنگین در اندام هوایی و ریشه

جهت اندازه‌گیری میزان فلزات سنگین ۰/۲۵ گرم نمونه آماده پودر شده در ارلن ۲۵ میلی ریخته و با آن ۴/۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک (HNO_3) ۶۵ درصد اضافه کرده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط قرار داده شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر اسید پرکلریک (۷۰-۷۲) درصد با آن اضافه شد، همچنین برای تعیین فلزات سنگین نمونه ریشه ۰/۲۵ گرم نمونه و به آن ۶ میلی‌لیتر اسید نیتریک به مدت یک شب در دمای محیط سپس ۲ میلی‌لیتر اسید پرکلریک اضافه و روی حمام شن به مدت ۶ ساعت گذاشته شد تا نمونه‌ها بی رنگ گردد (ابراهیم پور و مشریفه، ۱۳۸۷). پس از هضم، نمونه‌ها در هوای محیط قرارداده شدند تا سرد شوند (باهاناساوی و دهینا، ۲۰۰۹) سپس نمونه‌ها، با آب دوباره تقطیر به حجم ۲۵ سی‌سی رسانده شد و با استفاده از قیف پلاستیکی و کاغذ صافی واتمن فیلتر کرده و درون ظروف استریل ریخته شد. باکس‌ها شماره‌گذاری شده و غلظت عناصر سنگین در آن با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید (هوددجی و جلالیان، ۱۳۸۳).

۳-۸ تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای محاسبات آماری از نرم افزار MSTATC و SAS 9,1 استفاده شد، برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

فصل چہارم:

نتائج و بحث

۱-۴ رنگیزه‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنیک و کادمیم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل عناصر کادمیم و آرسنیک بر میزان کلروفیل a و کارتنوئید معنی‌دار و در مورد کلروفیل b معنی‌دار نبود (جدول ۱-۴).

جدول ۱-۴- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی بادرنجبویه

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید
بلوک	۲	۰/۰۳۱*	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}
آرسنیک	۳	۰/۷۴**	۰/۲۵۹**	۰/۱۶۹**
کادمیم	۳	۰/۴۱۳**	۰/۲۱۹**	۰/۱۵۰**
آرسنیک * کادمیم	۹	۰/۰۲۴*	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۲*
خطا	۳۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۸
ضریب تغییرات (%)		۱۳/۲	۱۴/۰	۵/۸

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و آرسنیک، میزان کلروفیل a با افزایش در کاربرد کادمیم و آرسنیک کاهش پیدا کرد اما این کاهش هنگامی که همزمان کادمیم و آرسنیک مورد استفاده قرار گرفت بسیار بیشتر بود. بر همین اساس بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار عدم کاربرد کادمیم و آرسنیک بدست آمد که برابر ۱/۲۶ میلی گرم در گرم بافت تر بود و با کاربرد ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان مربوط به تیمار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک و کادمیم بود که معادل ۰/۲۹ (میلی گرم در گرم بافت تر) بود (جدول ۲-۴). بر همین اساس می‌توان بیان کرد اثر کادمیم و آرسنیک با یکدیگر به صورت هم افزایی می‌باشد و باعث اثر زیان آور تر بر مقدار کلروفیل a که مهمترین رنگیزه فتوسنتزی هست می‌شود.

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی بادرنجبویه

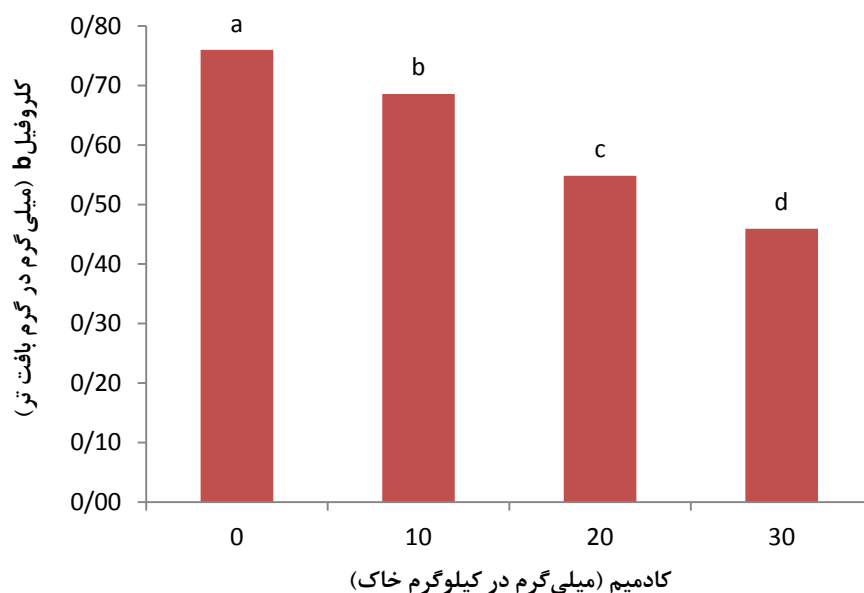
آرسنیک (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کادمیم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کلروفیل a (میلی گرم در گرم بافت تر)	کارتنوئید (میلی گرم در گرم بافت تر)
۰	۰	۱/۲۶a	۰/۷۵a
۱۰	۱۰	۱/۲۴a	۰/۶۷b
۲۰	۲۰	۰/۹۳b	۰/۶۴b
۳۰	۳۰	۰/۶۷d	۰/۵۳c
۱۰	۰	۰/۹۴b	۰/۶۴b
۱۰	۱۰	۰/۹b	۰/۵۵c
۲۰	۲۰	۰/۶۵d	۰/۴۷d
۳۰	۳۰	۰/۵۳e	۰/۴e
۲۰	۰	۰/۸c	۰/۵۶c
۱۰	۱۰	۰/۵۹de	۰/۵۱c
۲۰	۲۰	۰/۵۴e	۰/۳۸e
۳۰	۳۰	۰/۴۷ef	۰/۲۹f
۳۰	۰	۰/۶۵d	۰/۵۱cd
۱۰	۱۰	۰/۴۵f	۰/۴۳d
۲۰	۲۰	۰/۳۸f	۰/۳۴f
۳۰	۳۰	۰/۲۹g	۰/۱۹g

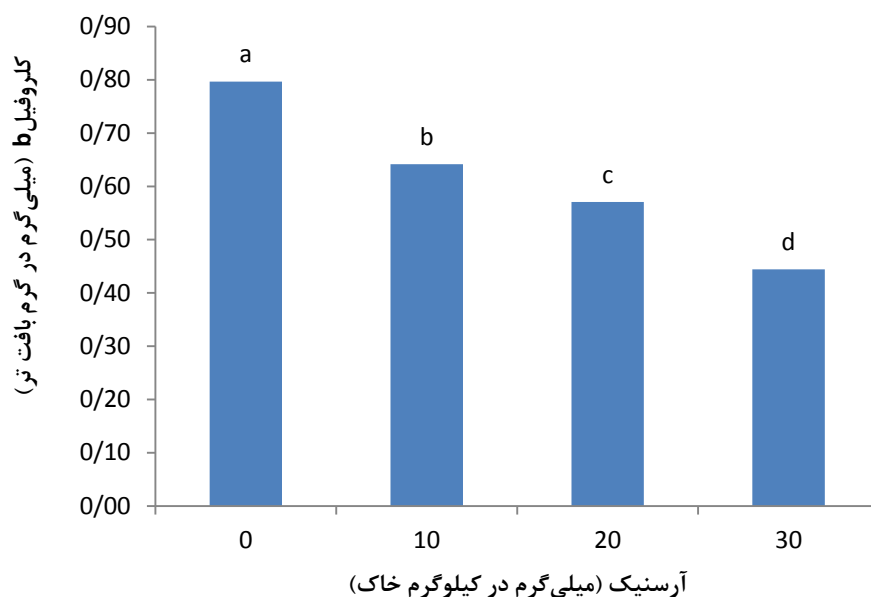
بر اساس نظر محققان کاهش رشد ناشی از سمیت عناصر سنگین، به علت کاهش فتوسنتز و تنفس (مایا و همکاران، ۱۳۹۳) و کاهش متابولیسم کربوهیدرات و آسیب به برخی آنزیم‌های فتوسنتزی مخصوصا آنزیم‌هایی که در چرخه‌ی کلوین و بیوسنتز کلروفیل نقش دارند همراه می‌باشد و ایجاد نکروزه و کلروزه می‌کند (پورقاسمیان و همکاران، ۲۰۱۳؛ سانیتا و همکاران، ۱۹۹۹)، در واقع بر اساس نظر محققان عدم رشد کافی در هنگام وجود عناصر سنگین به دلیل اثرات مخرب این فلزات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌باشد که با نتایج این آزمایش هماهنگ است.

کورسیکا و همکاران (۱۹۹۷) در گزارش مشابهی، کاهش فتوسنتز تحت تنش عناصر سنگین را مربوط به تاثیر این عناصر بر واکنش‌های تاریکی و تخریب کلروفیل‌ها در گیاه دانسته‌اند. با این حال

میلادینوا و همکاران (۲۰۱۴) کاهش نرخ فعال فتوسنتز را در دو لاین از کالوس درخت پلونیا در شرایط وجود عناصر سنگین گزارش کرده‌اند. نتایج پژوهشی بر روی خیار نشان داد که در غلظت کادمیم ۵۰ میکرو مولار، کاهش معنی‌داری نسبت به کادمیم ۲۰ میکرومولار در میزان فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی بوجود آمد (بورزانسکی و کولو، ۲۰۰۴).

در رابطه با کلروفیل b مقایسه میانگین اثر ساده آرسنیک و کادمیم نشان داد که با افزایش در کاربرد آرسنیک و کادمیم، میزان کلروفیل b کاهش یافت به طوری که کمترین میزان کلروفیل b در طی کاربرد ۳۰ میلی گرم آرسنیک و کادمیم مشاهده شد که به ترتیب برابر ۰/۴۴ و ۰/۴۶ میلی گرم در گرم بافت تر بودند. بیشترین میزان کلروفیل b نیز در شرایط عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم بدست آمد که به ترتیب برابر ۰/۸۰ و ۰/۷۶ میلی گرم در گرم بافت تر بود (شکل ۴-۱).





شکل ۴-۱- مقایسه میانگین اثر ساده آرسنیک و کادمیم بر میزان کلروفیل b بادرنجبویه

در مطالعه‌ای که توسط یعقوبیان و همکاران (۲۰۱۶) بر روی مولفه‌هایی همانند فلورسانس کلروفیل و نیز مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه بادرنجبویه در ۱۲ غلظت کادمیم از ۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک صورت گرفت، مشخص گردید که غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سبب آسیب جدی به فرآیندهای فتوسنتزی و کاهش اسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها، آسیب به فتوسیستم I و II و در نتیجه حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی شد. هم چنین کادمیم کاهش معنی داری در مقدار کلروفیل‌های a و b بوجود آورد. نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد حتی کاربرد کم از کادمیم و آرسنیک در محیط رشد بادرنجبویه باعث کاهش در مقدار کلروفیل b می‌شود که با نتایج دیگر محققان همسو می‌باشد.

بر اساس نظر محققان فرآیندهای فیزیولوژی از قبیل فتوسنتز در گیاهان عالی به فلزات سنگین بسیار حساس هستند (تانیاک و همکاران، ۲۰۰۷). میزان کلروفیل در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر تنش‌های محیطی تعیین می‌شود، تحقیقات نشان می‌دهد اولین اثر کادمیم بر گیاه، کاهش فتوسنتز و کلروز برگ هاست (باریلا و همکاران، ۲۰۰۱). فلزات سنگین از عملکرد فتوسیستم‌های II و I ممانعت می‌کنند، مشخص شده است که حساسیت فتوسیستم II به فلزات سنگین بیش از فتوسیستم I است

(آگروال و همکاران، ۲۰۰۲). نشان داده شده است که نیکل باعث افزایش در نسبت کلروفیل a/b در گندم می‌شود که نشان می‌دهد کلروفیل b حساس تر از کلروفیل a نسبت به سمیت نیکل می‌باشد. این نتایج مشابه نتایج گرفته شده توسط (ژالتاوسکایته، ۲۰۱۷) می‌باشد. در مقابل گزارش شده است که در برگ‌های کلم تیمار شده با نیکل، میزان کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b کاهش یافته است (پندی و شارما، ۲۰۲۰). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد کلروفیل a نسبت به کلروفیل b بیشتر نسبت به وجود عناصر سنگین حساس می‌باشد.

در تحقیقی دیگر نیز (وانگ، ۲۰۱۰) گزارش کرد که نسبت کلروفیل a/b در گیاه سورگوم تیمار شده با کادمیم کاهش یافت. گزارش شده است که اثر کادمیم بر میزان فتوسنتز بیشتر از اثر کادمیم بر میزان کلروفیل پس از گذشت زمان است، به همین دلیل سمیت کادمیم در مرحله اول فتوسنتز را کاهش داده و پس از آن با نشانه‌های مورفولوژیک از جمله کاهش سطح برگ همراه است. افزایش و یا عدم تغییر کلروفیل در تنش ملایم می‌تواند به دلیل افزایش در وزن مخصوص برگ باشد که ناشی از کاهش اندازه سلول است، بنابراین طی تنش ملایم، به دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، محتوای کلروفیل می‌تواند افزایش یابد و یا تغییر نکند. کاهش در نرخ خالص فتوسنتزی نشان دهنده‌ی بالا بودن دی اکسید کربن در اتاقک زیر روزه‌ای بوده و یا می‌تواند به دلیل بالا بودن تنفس گیاه بوده باشد که عموماً در گیاهانی که تحت تنش عناصر سنگین هستند، رخ می‌دهد (رومانوسکا و همکاران، ۲۰۰۲).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر میزان کارتنوئید در گیاه بادرنجبویه مشخص شد که کاربرد آرسنیک و کادمیم باعث کاهش معنی دار در مقدار کارتنوئید شد به طوری که کمترین مقدار کارتنوئید در طی کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم و آرسنیک بود. بیشترین مقدار برای کارتنوئید نیز در سطوح مختلف آرسنیک در هنگام عدم کاربرد کادمیم مشاهده شد. بر همین اساس در هنگام عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم بیشترین مقدار کارتنوئید مشاهده شد که برابر ۰/۷۵ میلی گرم در گرم بافت تر بود و کمترین مقدار برای کارتنوئید

در تیمار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک و کادمیم بدست آمد که برابر ۰/۱۹ میلی گرم در گرم بافت تر بود (جدول ۴-۲).

به طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش باید بیان کرد میزان رنگیزه های فتوسنتزی به شدت تحت تاثیر کاربرد آرسنیک و کادمیم قرار گرفت و علاوه بر اینکه کاربرد هر کدام به تنهایی باعث کاهش در رنگیزه های فتوسنتزی می شود کاربرد همزمان آرسنیک و کادمیم باعث اثر هم افزایی شده و اثر زیان آورتری بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی دارد (جدول ۴-۲).

مشاهدات انجام شده توسط (شی و کافکا، ۲۰۰۲) به عدم تغییر محتوای رنگیزه های کلروفیلی در سطوح پایین تر کادمیم اعمال شده بر گیاه گلرنگ اشاره دارد آن ها بیان کردند که وجود فرآیندهای محافظتی مانند آنتی اکسیدان ها و یا باند شدن کادمیم با پپتیدها می تواند سیستم فتوسنتزی گیاه را تحت حفاظت قرار دهد، کاهش مقدار کارتنوئیدها به دلیل فرونشانی غیرفتوشیمیایی کلروفیل های برانگیخته است که سبب برهم ریختن ساختارشان می گردد، کارتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می توانند به صورت مستقیم اکسیژن آزاد را غیرفعال کنند و یا از طریق فرونشاندن کلروفیل برانگیخته شده، به صورت غیرمستقیم از تشکیل اکسیژن یکتایی جلوگیری کنند و به این ترتیب دستگاه فتوسنتزی را از شروع پراکسیداسیون لیپیدی محافظت می کنند. نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد همانند کلروفیل ها کارتنوئید به شدت تحت تاثیر کاربرد کادمیم و آرسنیک قرار گرفته و کاهش پیدا می کند (جدول ۴-۲). در همین راستا بیان شده است کارتنوئیدها، کلروفیل و ترکیب ژنتیکی سلول را در برابر ROS تحت تنش فلزات سنگین محافظت می کند (راستگو و علم زاده، ۲۰۱۱)، در تحقیقی بلکه دی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که کادمیم میزان کارتنوئید را از طریق تجزیه آن در گیاهان کتان کاهش داده است، در مطالعه دیگری بر روی گیاه *Aeluropus littoralis* کاهش محتوای کارتنوئید در برابر افزایش کادمیم تایید شده است (راستگو و علم زاده، ۲۰۱۱).

در واقع محققان دلیل کاهش رنگیزه های فتوسنتز طی کاربرد عناصر سنگین را اینگونه بیان کرده اند که تغییرات بیوشیمیایی که در گیاه تحت تنش ایجاد می شود تجمع گونه های فعال اکسیژن

است که محصول اجتناب ناپذیر متابولیسم طبیعی سلول می‌باشد. در همین رابطه گزارش شده است کادمیم به طور معنی داری سبب افزایش میزان H_2O_2 در ساقه های کشت شده بادرنجبویه گردید (شمس الدین و قاسمیان، ۱۴۰۰)، در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرایندهای متابولیکی تولید ROS می‌کنند، گیاهان دارای سیستم های آنتی اکسیدانی پیچیده ای برای گریز از اثرات مضر ROS هستند، در شرایط تنش، تشکیل ROS بیشتر از توانایی گیاه برای برطرف کردن آن است و در نتیجه منجر به صدمات اکسیداتیو، اکسید کردن رنگیزه‌های فتوسنتزی و خسارت به لیپیدهای غشایی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک در گیاهان می شود (لاسپینا و همکاران، ۲۰۰۵).

۲-۴ وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن خشک اندام هوایی بادرنجبویه نشان داد، وزن خشک اندام هوایی بادرنجبویه تحت تاثیر معنی‌دار کاربرد کادمیم و آرسنیک در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت، همچنین براساس نتایج این آزمایش اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نیز بر وزن خشک اندام هوایی بادرنجبویه معنی دار بود (جدول ۳-۴).

جدول ۳-۴- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته بادرنجبویه

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	ارتفاع بوته
بلوک	۲	۵/۵۳ ^{ns}	۲/۱۴ ^{ns}
آرسنیک	۳	۷۹/۶۳ ^{**}	۸/۵۱ ^{**}
کادمیم	۳	۳۱/۰۱ ^{**}	۹/۶۳ ^{**}
آرسنیک * کادمیم	۹	۱۱/۰۶ [*]	۱۳/۲۱ ^{**}
خطا	۳۰	۲/۱۳	۵/۸۶
ضریب تغییرات (%)		۹/۶	۱۳/۱

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نشان داد بیشترین وزن خشک اندام هوایی در شرایط عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم بود و برابر ۲۰/۱ گرم در بوته بودند. همچنین در شرایط عدم

مصرف آرسنیک تا سطح ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم کادمیم وزن خشک وزن هوایی با (معادل ۱۹/۳ گرم در بوته)، با تیمار شاهد (۲۰/۱ گرم در بوته) در یک سطح آماری قرار گرفتند. در این بین با بالا رفتن غلظت کادمیم و آرسنیک از وزن خشک بخش هوایی کاسته شد به طوری که کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک و کادمیم بدست آمد که معادل ۹/۹۱ گرم در بوته بودند. همچنین باید بیان کرد در عدم کاربرد آرسنیک بین ۰ و ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کاربرد کادمیم اختلاف معنی داری در وزن خشک بخش هوایی وجود نداشت. این امر نشان دهنده آنست که در صورت عدم حضور آرسنیک گیاه بادرنجبویه تا ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک از غلظت کادمیم را تحمل کرده و وزن خشک بالایی داشته باشد (جدول ۴-۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد ارتفاع بوته تحت تاثیر معنی دار اثر ساده آرسنیک، کادمیم و اثر متقابل آرسنیک و کادمیم قرار گرفت (جدول ۴-۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و آرسنیک با کاربرد آرسنیک و کادمیم ارتفاع بوته بادرنجبویه نزولی بود به طوری که کمترین ارتفاع بوته در سطوح مختلف آرسنیک در کاربرد ۳۰ میلی گرم در گرم کادمیم و آرسنیک مشاهده شد که برابر ۱۳/۵ سانتی متر بود، بیشترین ارتفاع بوته در هنگام عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم مشاهده شد که برابر ۲۸/۷ سانتی متر بود اما با تیمار عدم کاربرد آرسنیک و ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم اختلاف معنی داری از نظر آماری نداشت (جدول ۴-۴).

بر اساس نظر محققان تنش عناصر سنگین ابتدا باعث کاهش فتوسنتز شده و پس از آن باعث کاهش در میزان وزن خشک گیاه می شود (شمس الدین و قاسمیان، ۱۴۰۰). زلجاسکو و نیلسون (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که طی تنش کادمیم و سرب و مس و روی، عملکرد اسانس و عملکرد وزن تر گیاه کاهش یافته است. نتایج آزمایش حاضر نیز کاهش وزن خشک و تر گیاه بادرنجبویه را با کاربرد کادمیم و آرسنیک نشان داد.

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر وزن

خشک اندام هوایی و ارتفاع بوته بادرنجبویه

آرسنیک (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کادمیم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در بوته)	ارتفاع بوته (سانتی متر)
۰	۰	۲۰/۱a	۲۸/۷a
	۱۰	۱۹/۳a	۲۷/۹a
	۲۰	۱۷/۵bc	۲۱/۷b
	۳۰	۱۶/۲cd	۲۰/۲b
۱۰	۰	۱۸/۴ab	۲۶/۶a
	۱۰	۱۵/۶d	۲۲/۱b
	۲۰	۱۵/۲d	۱۹/۵bc
	۳۰	۱۴/۹de	۱۷/۸c
۲۰	۰	۱۶/۶c	۲۲/۵b
	۱۰	۱۴/۱de	۱۷/۷c
	۲۰	۱۳/۲ef	۱۵/۶d
	۳۰	۱۳/۳ef	۱۵/۷d
۳۰	۰	۱۴/۱de	۲۱/۷b
	۱۰	۱۲/۸fg	۱۵/۴d
	۲۰	۱۱/۸g	۱۴/۵de
	۳۰	۹/۹۱h	۱۳/۵e

مطالعه‌ی انجام شده توسط قانی و همکاران (۲۰۱۰) به کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی لوبیا در اثر مصرف غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم کادمیم در کیلوگرم خاک اشاره دارد، همچنین کاهش وزن ریشه و شاخساره در گیاه گوجه فرنگی و بادمجان در غلظت ۳۰۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (خان و خان، ۱۹۸۳). نتایج پژوهشی در گیاه گندم نشان داد که حداکثر کاهش وزن خشک، تحت تنش اثر متقابل کادمیم و سرب ، زمانی رخ می دهد که حداکثر غلظت عناصر در محیط باشد (زاتوسکی و همکاران، ۲۰۱۷) این نتایج نیز با نتایج آزمایش حاضر هماهنگی دارد و اثر هم افزایش دو عنصر کادمیم و آرسنیک را تایید می کند.

در پژوهش انجام شده روی نعنای فلفلی و ریحان، وزن خشک گیاه، تحت تاثیر غلظت‌های ۱۰ پی پی ام کادمیم و ۱۰۰ پی پی ام سرب قرار نگرفت (زلجاکو و همکاران، ۲۰۰۶). این تفاوت در پاسخ بین گیاهان معمولا به ژنتیک گیاه مورد بررسی، غلظت‌های مورد استفاده برای گیاهان و شرایط پژوهش برمی‌گردد، همچنین به نظر می‌رسد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیشتر توسط کادمیم نسبت به سرب صورت گرفته است، از دیدگاه فیزیولوژی می‌توان اینگونه بیان نمود که به دلیل تحرک بیشتر کادمیم نسبت به سرب، همراه آب و شیرهای گیاهی، کادمیم بیشتر از آرسنیک به اندام هوایی فرستاده می‌شود و در نتیجه مسمومیت بیشتری نسبت به آرسنیک در اندام هوایی ایجاد می‌کند (عبدالسلام و همکاران، ۲۰۱۵).

۳-۴ وزن خشک و طول ریشه

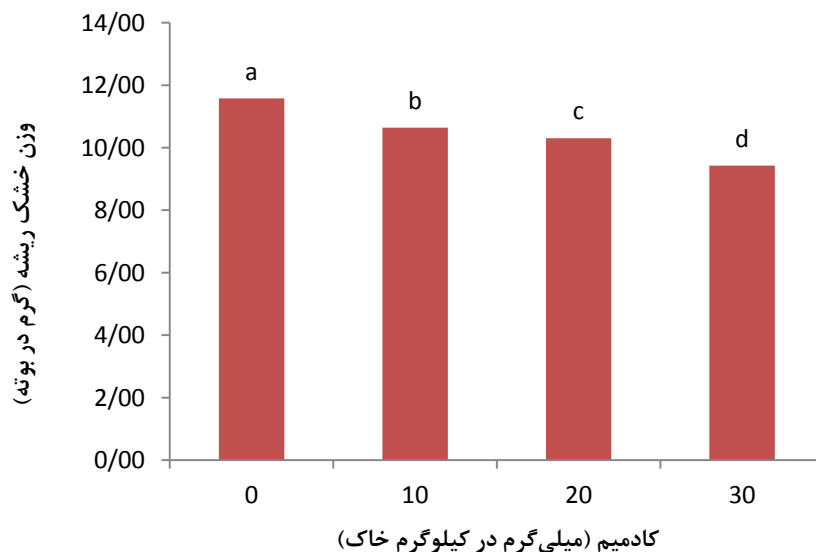
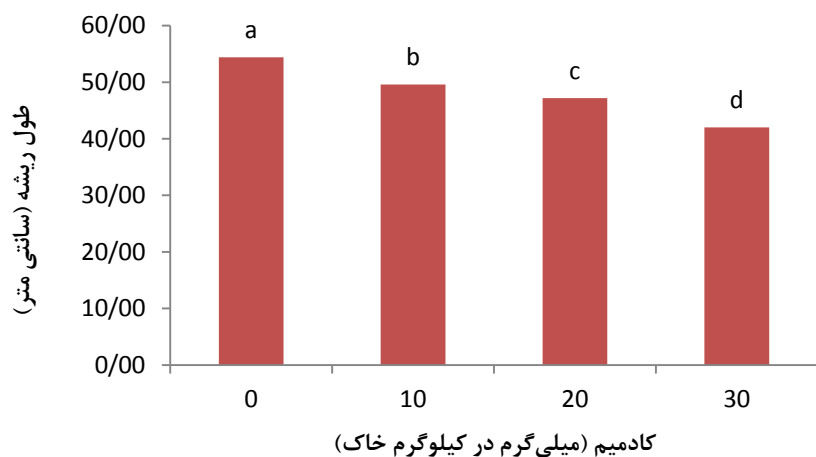
در جدول ۴-۵ نتایج تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن خشک و طول ریشه بادرنجبویه نشان داده شده است، بر اساس نتایج تجزیه واریانس وزن خشک و طول ریشه بادرنجبویه در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر معنی‌دار کادمیم و آرسنیک قرار گرفت (جدول ۴-۵).

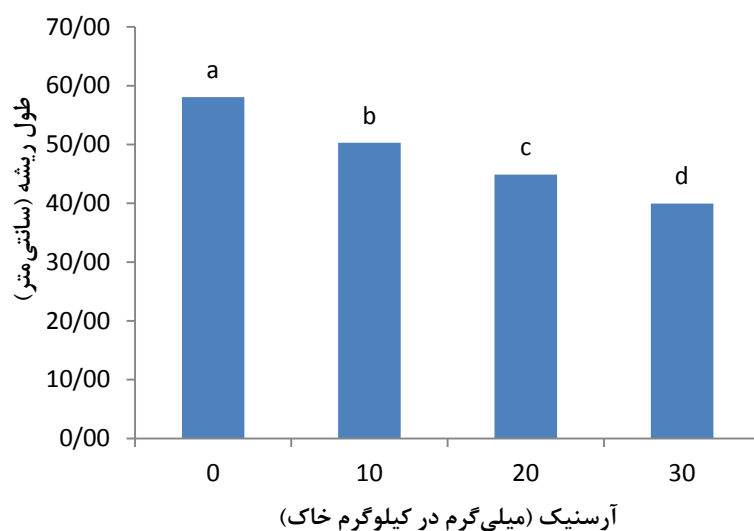
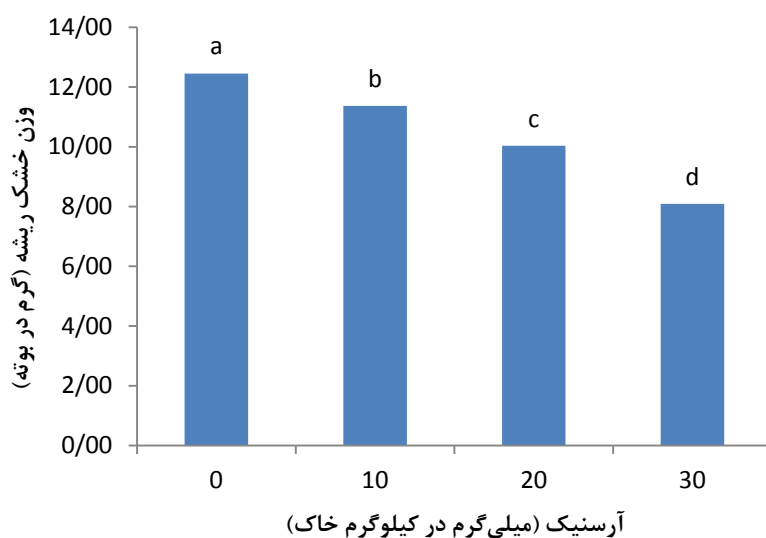
جدول ۴-۵- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر طول ریشه و وزن خشک ریشه بادرنجبویه

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ریشه	وزن خشک ریشه
بلوک	۲	۲/۵۰ ^{ns}	۱/۶۷ ^{ns}
آرسنیک	۳	۷۲۲/۰ ^{**}	۴۲/۲۸ ^{**}
کادمیم	۳	۳۱۹/۲ ^{**}	۹/۴۸ ^{**}
آرسنیک * کادمیم	۹	۶/۸۹ ^{ns}	۰/۶۳ ^{ns}
خطا	۳۰	۱۰/۷۴	۰/۷۵
ضریب تغییرات (%)		۶/۷	۸/۲

نتایج مقایسه میانگین اثر کادمیم بر وزن خشک و طول ریشه نشان داد با افزایش غلظت کادمیم، طول و وزن خشک ریشه به طور معنی داری کاهش نشان یافت. بر همین اساس کمترین میزان وزن

خشک و طول ریشه در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم بدست آمد که به ترتیب برابر ۹/۴۳ گرم در بوته و ۴۲ سانتی متر بود (شکل ۴-۲). بیشترین میزان برای وزن خشک و طول ریشه در هنگام عدم کاربرد کادمیم مشاهده شد که به ترتیب برابر ۱۱/۵۸ گرم در بوته و ۵۴/۴۱ سانتی متر بود (شکل ۴-۲). در رابطه با کاربرد آرسنیک نیز با افزایش در میزان کاربرد آرسنیک وزن خشک و طول ریشه در گیاه بادرنجبویه کاهش نشان یافت. بر همین اساس بیشترین میزان برای وزن خشک و طول ریشه در شرایط عدم کاربرد آرسنیک مشاهده شد و کمترین وزن خشک و طول ریشه در تیمار کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک به دست آمد و به ترتیب برابر ۸/۰۹ گرم و ۳۹/۹۵ سانتی متر بود (شکل ۴-۲).





شکل ۴-۲- مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر وزن و طول ریشه گیاه بادرنجبویه

نتایج تحقیقات بر روی سویا نشان داد که سمیت عناصر سنگین همانند سرب باعث القاء تغییرات هیستولوژیک (بافتی) در برگ‌ها شده و تخرق کمتر می‌شود. همچنین آوندهای چوب و آبکشی در دستجات آوندی کوچک شده و قطر آوندهای چوبی کاهش می‌یابد، اما شاید مهمترین آسیب برای گیاهان در معرض تنش عناصر سنگین آسیب به ریشه باشد که باعث ریزش تارهای کشنده شده و همچنین باعث عدم رشد ریشه می‌شود (الزبیتا و چویل، ۲۰۰۵).

حضور عناصر سنگین در مقادیر کم، در گیاه باعث افزایش متابولیت ثانویه و گونه های اکسیژن فعال می‌شود و در نهایت کاهش فتوسنتز را در پی دارد که این امر موجب کاهش مواد فتوسنتزی در

دسترس ریشه‌ها می‌شود و در نهایت وزن ریشه‌ها کاهش پیدا می‌کند (وندی و همکاران، ۱۳۹۴). رایی و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که حضور عناصر سنگین در محیط منجر به افزایش اثرات مخرب می‌شود که این امر در نهایت هم وزن اندام هوایی و هم وزن ریشه را در گیاه ریحان کاهش داد، به گونه‌ای که با افزایش غلظت کروم از شاهد به ۱۰ و ۲۰ میکرومولار، کاهش ۱۵ و ۲۵ درصدی نسبت به شاهد در وزن خشک ریشه مشاهده شد و با بالا رفتن غلظت کروم به ۱۰۰ میکرومولار، میزان وزن خشک ریشه بیش از ۴۰ درصد کاهش پیدا کرد. در مطالعه‌ای دیگر زلجاکف و نیلسون (۲۰۰۶) گزارش کردند که حضور سرب و کادمیم در محیط ریشه، باعث کاهش وزن تر اندام هوایی و ریشه در گیاه نعناع فلفلی شد.

به طور کلی وزن خشک در اندام هوایی و ریشه مصرف کننده کربنی هستند که از طریق فتوسنتز بدست می‌آید، در نتیجه سنتز کربوهیدرات‌ها و تجمع ماده خشک تابع تامین مداوم کربن فتوسنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه شود (کواکیک و باککور، ۲۰۰۷). در همین رابطه در تحقیقی جان و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که با افزایش غلظت کادمیم از ۱۵۰ به ۹۰۰ میکرومولار در *Brassica juncea* وزن تر اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. نتایج تحقیق ابوموریفه (۲۰۰۸) نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم ۱۰۰-۲۵۰ میلی گرم در لیتر در خیار، وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه کاهش یافت ولی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کاهش وزن تر اندام هوایی معنی دار نبود. از طرفی توانایی تعدادی از سلول‌ها در تجمع کادمیم می‌تواند به سایر سلول‌ها اجازه دهد که غلظت‌های غیر آسیب رسان کادمیم را تحمل نموده و به عملکرد طبیعی خود ادامه دهند (رادوتیک و همکاران، ۲۰۰۶). گزارش شده که در غلظت‌های پایین کادمیم و سرب در گیاهچه‌های گوجه فرنگی و سیب زمینی (زوکوفسکا، ۲۰۰۸) و کشت درون شیشه‌ای گیاه کلم *Brassica oleracea* (صادقی و همکاران، ۱۳۹۸) و مس در گیاه علف چشمه *Nasturtium officinale* (تقی زاده و همکاران، ۲۰۱۷) میزان رشد و وزن تر به دلیل غلظت پایین این فلزات تحت تاثیر قرار نگرفته است که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی ندارد.

۴-۴ عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر

در جدول ۴-۶ نتایج مربوط به تجزیه واریانس اثر آرسنیک و کادمیم بر عناصر غذایی موجود در برگ بادرنجبویه آورده شده است. براساس نتایج تجزیه واریانس غلظت عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر در برگ بادرنجبویه در سطح احتمال ۱ درصد تحت تاثیر کادمیم و آرسنیک قرار گرفتند و همچنین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر میزان عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر معنی‌دار نبود (جدول ۴-۶).

جدول ۴-۶- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر نیتروژن، پتاسیم و فسفر ریشه بادرنجبویه

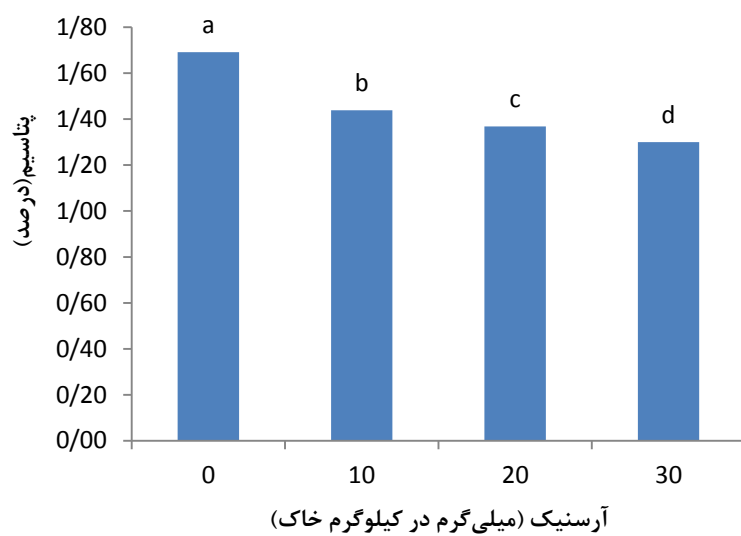
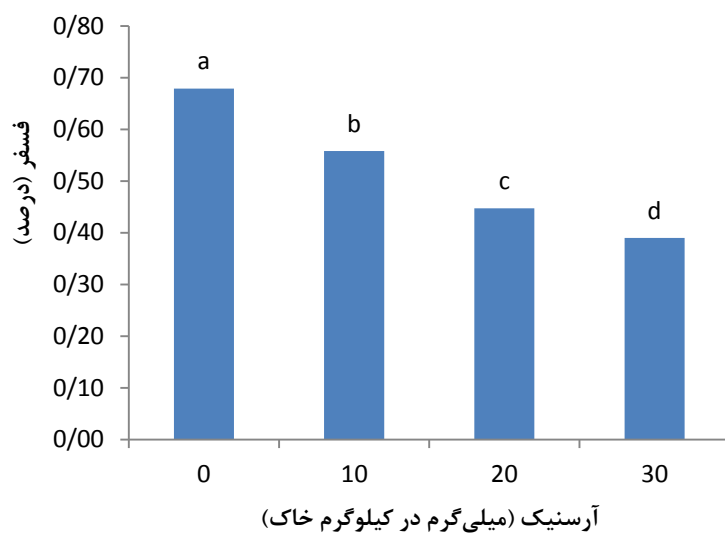
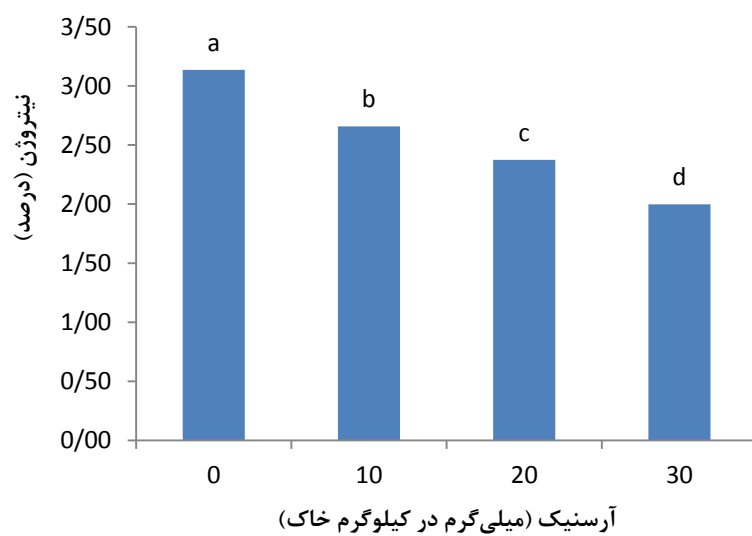
منابع تغییر	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
بلوک	۲	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}
آرسنیک	۳	۲/۷۶ ^{**}	۰/۱۹۵ ^{**}	۰/۳۵۰ ^{**}
کادمیم	۳	۱/۴۸ ^{**}	۰/۱۲۱ ^{**}	۰/۵۱۹ ^{**}
آرسنیک * کادمیم	۹	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۲۱ ^{ns}
خطا	۳۰	۰/۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۲۵
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۸	۱۲/۰	۱۱/۰

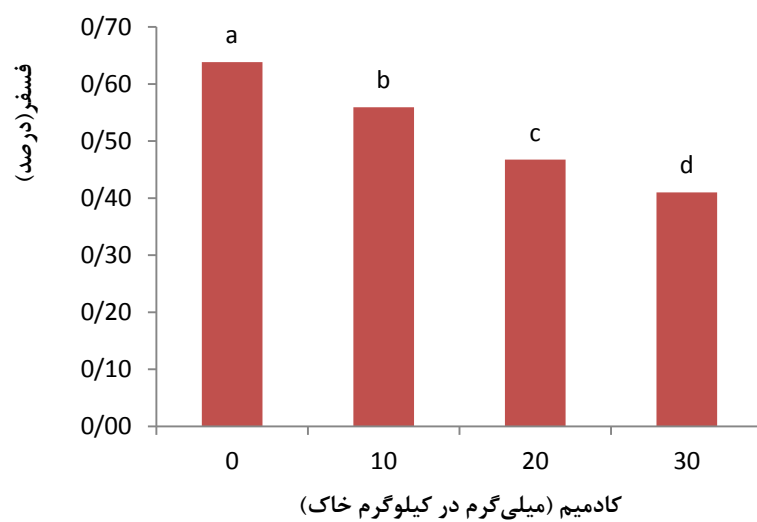
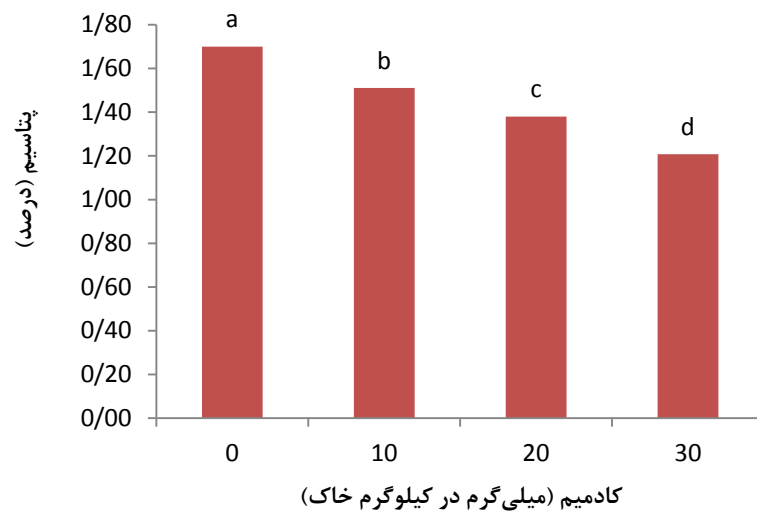
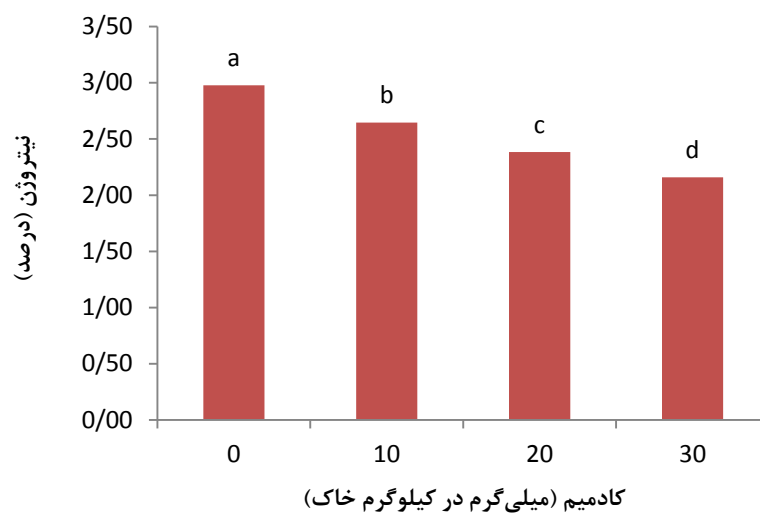
نتایج مقایسه میانگین اثر کاربرد آرسنیک بر غلظت عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر در برگ نشان داد غلظت این سه عنصر همراه با کاربرد آرسنیک تا سطح ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک، کاهش پیدا کرد و این کاهش به ترتیب معادل ۳۶/۵، ۴۲/۵ و ۲۲/۱ درصد نسبت به تیمار شاهد بود. این امر در رابطه با کاربرد کادمیم نیز صادق بود به طوری که با کاربرد کادمیم تا سطح ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک میزان عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر به ترتیب به مقدار ۲۱/۰، ۳۵/۶ و ۲۴/۱ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۴-۳). بر اساس نتایج این آزمایش یکی از اصلی ترین دلایل کاهش جذب و غلظت عناصر غذایی، کاهش در وزن خشک و طول ریشه بادرنجبویه در اثر کاربرد

کادمیم و آرسنیک بود. به عبارت دیگر با کاربرد آرسنیک و کادمیم خصوصیات ریشه از جمله وزن و طول آن دچار کاهش شد و در نهایت این امر باعث کاهش جذب عناصر غذایی گردید (شکل ۴-۳).

همچنین می توان بیان کرد که به طور کلی افزایش یا کاهش عناصر در گیاه، می تواند به دلیل روابط آنتاگونیستی و سینرژیستی آنها در محیط ریشه باشد. به عنوان مثال روابط سینرژیستی روی و کادمیم در غلظت های پایین کادمیم و آنتاگونیستی همین عناصر در غلظت بالای کادمیم در گیاه اسفناج گزارش شد (دوتانیا و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین از دیدگاه ناصر و همکاران (۲۰۰۹) جذب عناصر می تواند تحت تاثیر شرایط خاک، گونه ی گیاهی و یا نوع فلز قرار گیرد.

نتایج آزمایش نیز نشان داد رابطه آنتاگونیستی بین جذب عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر و وجود کادمیم و آرسنیک در خاک وجود دارد (شکل ۴-۳). در همین راستا بیان شده است اثرگذاری عناصر سنگین بر تعرق گیاه به نوع یون فلزی، غلظت عنصر سمی، مرحله ی رشدی گیاه، ترکیب عناصر در محیط کشت (آنتاگونیستی و سینرژیستی) و نوع تغذیه گیاه بستگی دارد (برودلی و همکاران، ۲۰۰۷).





شکل ۴-۳- مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر فسفر، نیتروژن و پتاسیم بادرنجبویه

در رابطه با اثر آنتاگونیستی و سینرژیستی جذب عناصر غذایی در حضور عناصر سنگین نوربخش رضایی و همکاران (۱۳۹۸) در تحقیقی در گیاه بادرنجبویه، نتایج مقایسه میانگین داده‌های آزمایش آنها نشان داد که با افزایش غلظت کلرید کادمیم در محیط کشت، میزان جذب این فلز افزایش پیدا کرد به طوری که بیشترین میزان جذب کادمیم در غلظت ۴۰ میکرومولار مشاهده شد. جذب آهن نیز در تمامی غلظت‌ها با افزایش غلظت کلرید کادمیم در محیط کشت کاهش معنی داری پیدا کرد و کمترین میزان جذب آهن در غلظت ۴۰ میکرومولار بود. بیشترین جذب روی در غلظت ۱۰ میکرومولار بود بعد از آن با افزایش غلظت کلرید کادمیم میزان جذب این عنصر کاهش یافت ولی با این حال کمترین میزان جذب روی در شاهد بود. کلرید کادمیم موجب کاهش جذب مولیبدن در همه غلظت‌ها نسبت به شاهد شد، اما کلرید کادمیم موجب افزایش جذب منگنز شد. نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد دو عنصر کادمیم و آرسنیک رابطه آنتاگونیستی با عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم دارند (شکل ۴-۳).

۴-۵ فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کاربرد کادمیم و آرسنیک در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ داشت (جدول ۴-۷). همچنین براساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل کادمیم و آرسنیک نیز بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ معنی دار بود (جدول ۴-۷).

جدل ۴-۷- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بادرنجبویه

منابع تغییر	درجه آزادی	کاتالاز	SOD
بلوک	۲	۱۴/۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}
آرسنیک	۳	۱۸۰/۹ ^{**}	۰/۲۱۸ ^{**}
کادمیم	۳	۱۴۳/۹ ^{**}	۰/۱۳۵ ^{**}
آرسنیک * کادمیم	۹	۱۱/۷۴ [*]	۰/۰۲۲ ^{**}
خطا	۳۰	۵/۸۶	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۰	۵/۲

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کادمیم و آرسنیک استفاده از کادمیم و آرسنیک سبب افزایش در میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز شد، به طوری که در تمام سطوح آرسنیک بیشترین مقدار فعالیت دو آنزیم در سطح ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم بدست آمد. همچنین باید بیان کرد در کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بیشتر از سایر سطوح بود، به نظر می رسد با افزایش در میزان کادمیم و آرسنیک و افزایش تنش، میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز نیز افزایش پیدا می کند (جدول ۴-۸). فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم و آرسنیک، نسبت به شاهد چند درصد افزایش داشت. که به ترتیب معادل ۳۲/۳ و ۱/۳۳ واحد آنزیم بر گرم وزن تر بودند همچنین کمترین میزان برای فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار عدم کاربرد کادمیم و آرسنیک بدست آمد که به ترتیب برابر ۱۴/۶ و ۰/۶۷ واحد آنزیم بر گرم وزن تر برگ بود (جدول ۴-۸).

جدول ۴-۸- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بادرنجبویه

آرسنیک (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کادمیم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کاتالاز (واحد آنزیم بر گرم وزن تر)	SOD (واحد آنزیم بر گرم وزن تر)
	۰	۱۴/۶g	۰/۶۷g
	۱۰	۱۶/۷f	۰/۸۹f
	۲۰	۲۳/۳d	۱/۰۵f
	۳۰	۲۴/۵d	۱/۲۲c
	۰	۱۸f	۱/۱ed
	۱۰	۲۲/۶ed	۱/۱۳d
۱۰	۲۰	۲۴/۱d	۱/۱۹c
	۳۰	۲۸/۱b	۱/۲۵b
	۰	۲۰/۲e	۱/۰۹e
	۱۰	۲۳/۵d	۱/۲c
۲۰	۲۰	۲۶c	۱/۱۹c
	۳۰	۲۸/۹b	۱/۲۹a
	۰	۲۸/۲b	۱/۲۱c
	۱۰	۲۸/۹b	۱/۲۷b
۳۰	۲۰	۲۷/۱b	۱/۲۹a
	۳۰	۳۲/۳a	۱/۳۳a

افزایش تنش با ایجاد تغییر در اسیدهای چرب غیراشباع بر ساختار و ویژگی‌های غشاء سلولی اثر می‌گذارد و باعث افزایش ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود. این امر سبب پراکسیداسیون لیپدها و در نتیجه کاهش تراوایی غشاء سلولی در گیاهان حساس می‌شود (تورکان و همکاران، ۲۰۰۵). کاتالاز یکی از مهمترین اجزا مکانیسم‌های محافظتی گیاهان است که در میتوکندری‌ها و پراکسی زوم‌ها وجود دارد و دارای نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش می‌باشند (راستگو و علم زاده، ۲۰۱۱). در تحقیقی روبتو و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند اضافه کردن ۵۰ میکرومولار کادمیم به کشت هیدروپونیک *Pinus sylvestris* در ۶ ساعت اول باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددسموتاز شد و بعد از گذشت ۱۲ ساعت کاهش یافت، درحالی که در ۶ ساعت اول باعث کاهش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز گردید و بعد از ۱۲ ساعت باعث افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شد.

افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز توسط کلرید کادمیم نشان می‌دهد که این آنزیم‌ها با همکاری یکدیگر در حذف رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و نیز دلیلی بر شروع دفاع آنتی اکسیدانی می‌باشند (جدول ۴-۸). به عنوان مثال در گزارشی بیان شد که پاسخ ناکافی یک آنزیم به فلزات سنگین توسط افزایش فعالیت آنزیم‌های دیگر جبران می‌شود (مارکز و همکاران، ۲۰۱۵). برخی پژوهشگران محتوی مالئون دی آلدئید و کاتالاز (آنزیم‌های آنتی اکسیدان قوی) را به عنوان یک بیو مارکر می‌شناسند که می‌تواند نشانگر تنش عناصر سنگین باشد (ژلجازکوف و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج یانگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که متناسب با افزایش غلظت کادمیم از صفر تا ۵۰۰ میکرومولار در محلول غذایی، افزایش معنی داری ($P > 0.05$) در محتوی مالون دی آلدئید در

گیاه *Koeleria paniculata* مشاهده شد. نتایج پژوهشی در گیاه *Pogonatherum crinitum* نشان داد که در غلظت ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سرب حداکثر MDA وجود داشته و در غلظت‌های بالاتر یعنی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کاهش پیدا کرد و از شاهد هم کمتر شد. البته دلیل این اتفاق را فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD و POD در غلظت‌های بالاتر سرب دانسته است (ژائولونگ و

همکاران، ۲۰۱۸). در بررسی بر روی توت فرنگی انجام شد، بیشترین میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در زمان حضور حداکثری غلظت‌های کادمیم در محیط مشاهده شد (یانگ و همکاران ۲۰۰۸) این نتایج با تحقیقی دیگر که بافیل (۲۰۱۰) روی شاهی و وانگ و همکاران (۲۰۱۰) روی باقلا انجام دادند، مطابقت داشته که خود تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است.

همچنین محققان بیان کرده اند افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانت توسط فلزات سنگین نشان می‌دهد که یون‌های فلزی باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد از طریق افزایش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز شده و این امر باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه افزایش سطح آنزیم‌های آنتی اکسیدانت می‌شود (احمد و همکاران، ۲۰۰۷). در واقع هنگامی که سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن از توانایی سیستم آنتی اکسیدان برای از بین بردن آن‌ها تجاوز کند باعث آسیب رساندن به ترکیبات سلولی گیاه می‌شوند (چودوهاری و همکاران، ۲۰۰۶). نتیجه مطالعه کرانته و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که میزان آنتی اکسیدان‌ها در گیاه ذرت تیمار شده با کادمیم بیشتر از گیاهان شاهد بود. در گیاه نخود نیز کادمیم به طور قابل ملاحظه ای سبب افزایش پراکسیداسیون لیپید شد. در صورتی که در ریشه‌های هویج پراکسیداسیون لیپید مشاهده نشد (سانیتا و همکاران، ۱۹۹۹). مشاهده پاسخ‌های گوناگون پراکسیداسیون لیپید، احتمالاً به سطح کادمیم ذخیره شده و به غلظت گروه‌های تیولی موجود در گیاه بستگی دارد، تیول‌ها دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی قوی هستند که می‌توانند تنش اکسیداتیو را بی‌اثر کنند (مجاری و همکاران، ۲۰۰۱).

۴-۶ کادمیم و آرسنیک (بخش هوایی)

نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنیک و کادمیم بر میزان تجمع دو عنصر آرسنیک و کادمیم در بخش هوایی گیاه بادرنجبویه در جدول ۴-۹ نشان داده شده است، بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنیک، کادمیم و اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی در گیاه بادرنجبویه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۴-۹).

جدول ۴-۹- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر کادمیم و آرسنیک
بادرنجبویه

ریشه		بخش هوایی		درجه آزادی	منابع تغییر
Cd	As	Cd	As		
۱/۱۸ ^{ns}	۰/۴۳۲ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۲	بلوک
۸۴/۶۳ ^{**}	۱۰۱۱/۰ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{**}	۸۱۲/۶ ^{**}	۳	آرسنیک
۴۴۳۵/۳ ^{**}	۳۷/۲۶ ^{**}	۰/۱۷۸ ^{**}	۳۵/۰۱ ^{**}	۳	کادمیم
۱۸/۱۷ ^{**}	۹/۷۶ ^{**}	۰/۰۰۵ ^{**}	۵/۰۶ ^{**}	۹	آرسنیک * کادمیم
۲/۴۴	۰/۶۲	۰/۰۰۱	۰/۷۶	۳۰	خطا
۶/۷	۷/۱	۵/۷	۷/۹		ضریب تغییرات (%)

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی گیاه بادرنبویه در تمام سطوح کاربرد آرسنیک با افزایش در میزان کاربرد کادمیم، محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی نیز افزایش پیدا کرد به طوری که در تمام سطوح آرسنیک بیشترین میزان برای محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم مشاهده شد و بیشترین میزان برای محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی در بین تمام تیمار های مورد مطالعه در تیمار کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم و ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک مشاهده شد و به ترتیب برابر ۱۷/۵ و ۰/۸۵ میکروگرم در گرم ماده خشک بودند. اما در رابطه با کمترین میزان برای محتوی کادمیم و آرسنیک بخش هوایی باید بیان کرد رابطه کادمیم و آرسنیک خلاف یکدیگر بود، به طوری که با کاربرد کادمیم میزان جذب برای آرسنیک کاهش پیدا کرد و بلعکس، بر همین اساس کمترین میزان برای کادمیم در تیمار کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک و عدم کاربرد کادمیم مشاهده شد که برابر ۰/۵۵ میکروگرم در گرم ماده خشک بود و کمترین میزان برای آرسنیک در تیمار عدم کاربرد آرسنیک و کاربرد ۳۰ و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم مشاهده شد و به ترتیب برابر ۱/۵۱ و ۱/۴۴ میکروگرم در گرم ماده خشک بود (جدول ۴-۱۰).

جدول ۴-۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر میزان تجمع کادمیم و آرسنیک بخش هوایی و ریشه بادرنجبویه

بخش هوایی (میکروگرم در گرم ماده خشک)		ریشه (میکروگرم در گرم ماده خشک)			
آرسنیک		کادمیم			
(میلی گرم در کیلوگرم خاک)	(میلی گرم در کیلوگرم خاک)	As	Cd	As	Cd
۰	۰	۱/۹۷f	۰/۶۳d	۱/۷f	۲/۷۲f
۱۰		۱/۷f	۰/۶۹d	۱/۵۸f	۱۶/۸e
۲۰		۱/۴۴f	۰/۸۷b	۱/۵۲f	۳۳/۳c
۳۰		۱/۵۱f	۰/۹۶a	۱/۵۶f	۵۳/۳a
۰		۹/۳۲d	۰/۶۴d	۶/۹۴e	۲/۴۵f
۱۰		۷/۵۵d	۰/۷۶c	۵/۷۹e	۱۵/۷e
۲۰	۱۰	۵/۶۳e	۰/۸۳b	۴/۹۵e	۲۹c
۳۰		۵/۴e	۰/۸۳b	۴/۵۸e	۵۰/۵a
۲۰		۱۸/۹b	۰/۵۵e	۱۷/۲c	۲/۳۸f
۱۰		۱۶/۸b	۰/۷۴c	۱۵/۸c	۱۴/۷e
۲۰		۱۳/۸c	۰/۸b	۱۴/۹cd	۲۴/۷d
۳۰		۱۱/۶c	۰/۸۲b	۱۳/۱d	۴۴/۵b
۰		۲۱/۷a	۰/۵۵e	۲۷/۳a	۱/۸۲f
۱۰	۳۰	۲۰/۷a	۰/۷c	۲۲/۸b	۱۵/۱ e
۲۰		۲۰/۲a	۰/۸۲b	۱۹/۳b	۲۳/۸d
۳۰		۱۷/۵b	۰/۸۵b	۱۷/۸c	۴۲/۲b

بر اساس نظر محققان مقدار کادمیم و آرسنیک موجود در گیاهان بستگی به میزان کادمیم و آرسنیک در بستر کشت و توانایی جذب این عناصر توسط گیاهان دارد (علی‌نژاد و همکاران، ۲۰۱۲). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اغلب فلزات تمایل دارند که در قسمت ریشه گیاهان باقی بمانند (علی و همکاران، ۲۰۱۵). در بیشتر موارد غلظت عناصر سنگین در ریشه بیشتر از اندام هوایی است. با این حال برخی مطالعات نشان داده که مقدار تجمع در اندام هوایی، به ویژه برگ و ساقه، بیشتر از سایر اندام‌ها بوده و در دانه بسیار کمتر از برگ و ساقه می‌باشد (یعقوبیان و همکاران، ۲۰۱۷). این نتایج با نتایج آزمایشات انجام شده بر گیاه گندم (*Triticum aestivum*) بوسن و همکاران (۲۰۱۳) و

بر گیاه ترتیزک خوک (*Coronopus didymus*) سیدهو و همکاران (۲۰۱۷) تایید کننده نتایج آزمایشات حاضر است. برخی از محققان بیان کرده‌اند عناصر سنگین هم در بخش هوایی گیاه و هم در ریشه گیاهان تجمع می‌یابند اما در عین حال حضور بیشتر عناصر سنگین در ریشه به نسبت اندام هوایی می‌تواند به دلیل تحرک بسیار کم این عناصر مثل آرسنیک در خاک باشد که در بیان رفتار فیزیولوژی عنصر، کم تحرکی شدید آن نسبت به کادمیم ذکر شده است (گوپتا و همکاران، ۲۰۱۰).

۴-۷ کادمیم و آرسنیک (ریشه)

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر کاربرد کادمیم و آرسنیک اثر متقابل کادمیم و آرسنیک بر غلظت دو عنصر آرسنیک و کادمیم در ریشه تاثیر معنی داری داشت (جدول ۴-۹). در رابطه با محتوی کادمیم و آرسنیک در ریشه، نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نشان داد کاربرد آرسنیک و کادمیم با یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند به عبارت دیگر کاربرد آرسنیک باعث جذب کمتر برای کادمیم شد و کاربرد آرسنیک نیز باعث جذب کمتر در میزان کادمیم گردید. بر همین اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل محتوی کادمیم و آرسنیک در ریشه نشان داد بیشترین مقدار برای آرسنیک ریشه در تیمار عدم کاربرد آرسنیک و کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کادمیم مشاهده شد و برابر ۱/۵۲ میکروگرم در گرم ماده خشک بود، کمترین میزان برای کادمیم نیز در تیمار کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک و عدم کاربرد کادمیم مشاهده شد که برابر ۱/۸۲ میکروگرم در گرم ماده خشک بود (جدول ۴-۱۰). بیشترین محتوی کادمیم در ریشه در تیمار کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کادمیم و عدم کاربرد آرسنیک مشاهده شد که برابر ۵۳/۳ میکروگرم در گرم ماده خشک بود و بیشترین محتوی آرسنیک در ریشه هنگامی بدست آمد که کاربرد آرسنیک ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و کاربرد کادمیم ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود که برابر ۲۷/۳ میکروگرم در گرم ماده خشک بود (جدول ۴-۱۰).

بر اساس نتایج این آزمایش به طور کلی باید بیان کرد کادمیم و آرسنیک برای جذب شدن با یکدیگر رقابت کرده و بر جذب هم توسط گیاه بادرنجبویه اثر مستقیم دارند به طوری که وجود هر کدام از این دو عنصر باعث عدم جذب در عنصر دیگر می‌شود، بر همین اساس باید بیان کرد اثر آنتاگونیستی این دو عنصر منجر به کاهش جذب هر کدام از این عناصر شده اما از طرف دیگر باید بیان کرد هر دو عنصر کادمیم و آرسنیک اثر منفی شدید بر جذب سایر عناصر غذایی از جمله نیتروژن، پتاسیم و فسفر می‌گذارند (شکل ۴-۳).

پینتو و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای، غلظت عناصر کادمیم و سرب را در اندام رویشی هفت گیاه دارویی در پنج منطقه آلوده به عناصر سنگین بررسی کردند و نشان دادند که بادرنجبویه علاوه بر جذب غلظت بالایی از عناصر موجود عملکرد قابل قبولی داشت. همچنین در مطالعه‌ای دیگر عزیزاده و همکاران (۲۰۱۲) مصرف ۱۰۰ درصد پساب تصفیه شده از منطقه شهرکرد برای گیاه بادرنجبویه توصیه شد. در تحقیقی، برخی از سبزی‌ها شامل تربچه تحت آبیاری با پساب حاوی عناصر سنگین، دارای فاکتور انتقال از خاک به گیاه، بیشتر از یک برای کادمیم بودند که نشان دهنده تحرک زیاد کادمیم می‌باشد. گوپتا و همکاران (۲۰۱۰) علاوه بر این در پژوهشی ارتباط بین میزان کادمیم در خاک و جذب توسط ریشه و انتقال آن به اندام هوایی در چهار گیاه صیفی توسط کاشیف و همکاران نیز با یافته‌های آزمایش حاضر هماهنگی داشت (کاشیف و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در راستای نتایج آزمایش حاضر بررسی‌ها نشانگر این بوده که ترکیب دو عنصر در محیط کشت گیاه، منجر به ایجاد اثر متقابل (سینرژیستی یا آنتاگونیستی) دو عنصر می‌شود که در این مطالعه اثر پیچیده آنتاگونیستی حاکم بوده و البته برخی دیگر بر این عقیده اند که اثر متقابل دو عنصر، علاوه بر ایجاد جذب رقابتی بین دو عنصر، باعث پیچیده شدن فرایند کلاته کردن و تغییرات شدید در فعالیت آنزیمی می‌شود (لی و همکاران، ۲۰۰۵).

محققان بیان کرده‌اند کادمیم اغلب در واکوئل سلول های گیاهان عالی تجمع می یابد، همچنین تجمع کادمیم در دیواره سلول و تیغه میانی بین آندودرم و دایره محیطیه نیز گزارش شده است (راموس

و همکاران، ۲۰۰۲). در گزارشی بیان شده است که غلظت کادمیم در اندام‌های گوناگون گیاه به خصوصیات ژنتیکی هر گیاه و غلظت این فلز در محیط کشت بستگی دارد (هی و همکاران، ۲۰۰۹) به منظور برآورد انتقال فلزات از محیط کشت به گیاه از چندین پارامتر از جمله شاخص ترابری، شاخص گردآوری و میزان تجمع استفاده می‌شود. این ضرایب بستگی به گونه گیاهان و نوع فلز دارد، شاخص ترابری پارامتری است که توان جابجایی فلز را نشان می‌دهند و راندمان انتقال فلزات را ارزیابی می‌کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰). فرم‌های قابل جذب کادمیم و آرسنیک توسط گیاه کاملاً مشخص نشده ولی به نظر می‌رسد که ریشه عمدتاً یون فلزی آزاد را از محلول خاک جذب می‌کند (گلیک، ۲۰۱۳) مشخص شده است که گیاهان رشد یافته در مناطق آلوده به فلزات سنگین دارای کمبود آهن می‌باشند که اثر آنتاگونیستی بین کادمیم و این عنصر می‌باشد (بورد و همکاران، ۲۰۰۰). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد رابطه بین جذب عناصر آرسنیک و کادمیم سینرژستیک و بین آرسنیک و کادمیم با نیتروژن، فسفر و پتاسیم آنتاگونیستی می‌باشد (جدول ۴-۱۰).

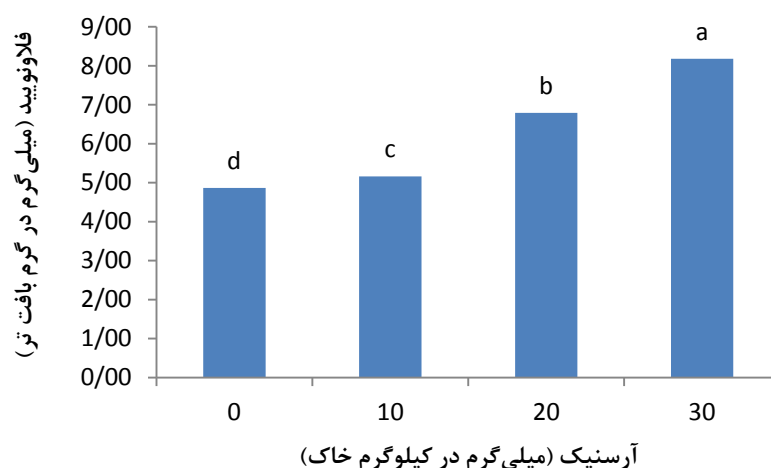
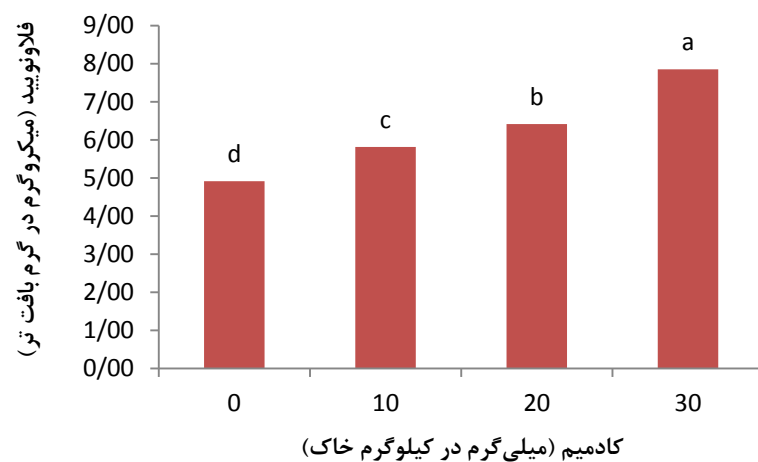
۴-۸ فلاونوئید، آنتوسیانین و کربوهیدرات

در جدول ۴-۱۱ نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنیک و کادمیم بر میزان فلاونوئید و آنتوسیانین برگ گیاه بادرنجبویه نشان داده شده است. بر اساس نتایج این جدول، فلاونوئید به طور معنی‌داری تحت تاثیر کاربرد آرسنیک و کادمیم قرار گرفت اما آنتوسیانین علاوه بر اثر ساده آرسنیک و کادمیم تحت تاثیر معنی دار اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نیز قرار گرفت (جدول ۴-۱۱).

جدول ۴-۱۱- تجزیه واریانس اثر کادمیم و آرسنیک بر فلاونوئید، آنتوسیانین و کربوهیدرات بادرنجبویه

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئید	آنتوسیانین	کربوهیدرات محلول
بلوک	۲	۱/۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۱۱۲ ^{ns}
آرسنیک	۳	۲۸/۵ ^{**}	۰/۱۵۴ ^{**}	۰/۹۸۴ ^{**}
کادمیم	۳	۱۸/۲ ^{**}	۰/۲۱۹ ^{**}	۱/۰۲۱ ^{**}
آرسنیک * کادمیم	۹	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۰۱۱ [*]	۱/۶۱۰ ^{**}
خطا	۳۰	۰/۳۲	۰/۰۰۴	۰/۲۴۱
ضریب تغییرات (%)		۹/۰	۱۳/۳	۱۰/۶

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر ساده آرسنیک و کادمیم بر میزان فلاونوئید مشخص شد با افزایش در میزان کاربرد آرسنیک و کادمیم میزان فلاونوئید برگ افزایش پیدا کرد به طوری که بیشترین مقدار فلاونوئید در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک کادمیم و آرسنیک مشاهده شد که به ترتیب برابر ۷/۸۵ و ۸/۱۸ میکروگرم در گرم بافت تر بود. کمترین میزان برای فلاونوئید نیز در تیمار عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم مشاهده شد که به ترتیب برابر ۴/۸۶ و ۴/۹۲ میکروگرم در گرم بافت تر بود (شکل ۴-۴).



شکل ۴-۴- مقایسه میانگین اثر کادمیم و آرسنیک بر فلاونوئید بادرنبویه

در رابطه با آنتوسیانین نتایج اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نشان داد در تمام سطوح آرسنیک با افزایش در میزان کادمیم میزان آنتوسیانین افزایش پیدا کرد، اما باید به این نکته اشاره شود که

کادمیم و آرسنیک دارای اثر هم افزایی در افزایش آنتوسیانین می‌باشند، به طوری که با افزایش آرسنیک به ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک میزان آنتوسیانین نیز به مقدار بیشتری در سطوح مختلف کادمیم افزایش پیدا کرد (جدول ۴-۱۲)، بر همین اساس بیشترین مقدار آنتوسیانین در هنگام کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک آرسنیک و کادمیم مشاهده شد که برابر ۰/۷۶ میکروگرم در گرم بافت تر بود و کمترین مقدار برای آن در هنگام عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم بدست آمد و برابر ۰/۱۷ میکروگرم در گرم بافت تر بود (جدول ۴-۱۲).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر آرسنیک و کادمیم بر تغییرات کربوهیدرات محلول، اثر آرسنیک، کادمیم و اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر تغییرات کربوهیدرات محلول معنی‌دار می‌باشد (جدول ۴-۱۱). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم نشان داد همانند آنتوسیانین کمترین مقدار برای کربوهیدرات محلول در هنگام عدم کاربرد آرسنیک و کادمیم مشاهده شد که برابر ۱/۰۴ میلی‌گرم در لیتر بود، بیشترین مقدار برای کربوهیدرات محلول در تیمار کاربرد ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک مشاهده شد که برابر ۲/۳۷ میلی‌گرم در لیتر بود، در واقع باید اینگونه بیان کرد با افزایش در کاربرد آرسنیک و کادمیم میزان کربوهیدرات محلول در گیاه بادرنجبویه نیز افزایش پیدا می‌کند که این امر در شرایط کاربرد همزمان کادمیم و آرسنیک بیشتر می‌باشد و اثر سینرژستیک دارد (جدول ۴-۱۲).

جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کادمیم بر آنتوسیانین و کربوهیدرات بادرنجبویه

آرسنیک (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	کادمیم (میلی گرم در کیلوگرم خاک)	آنتوسیانین (میکروگرم در گرم بافت تر)	کربوهیدرات محلول (میلی گرم در لیتر)
۰	۰	۰/۱۷f	۱/۰۴f
۱۰	۱۰	۰/۳۱e	۱/۲۰e
۲۰	۲۰	۰/۵۵b	۱/۵۷c
۳۰	۳۰	۰/۵۸b	۱/۶۸c
۱۰	۰	۰/۲۸e	۱/۰۹f
۱۰	۱۰	۰/۳۹ed	۱/۳۴e
۲۰	۲۰	۰/۴۵d	۱/۵۷c
۳۰	۳۰	۰/۶۵b	۱/۸۱b
۲۰	۰	۰/۴۲d	۱/۴۵dc
۱۰	۱۰	۰/۴۷c	۱/۵۳c
۲۰	۲۰	۰/۵c	۱/۸۷b
۳۰	۳۰	۰/۶۸ab	۲/۱۴a
۳۰	۰	۰/۵۵bc	۱/۷۶b
۱۰	۱۰	۰/۶۱b	۲/۰۸a
۲۰	۲۰	۰/۷۲a	۲/۱۷a
۳۰	۳۰	۰/۷۶a	۲/۳۷a

پژوهش‌های نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عناصر سنگین محتوی آنتوسیانین در گیاه *oleracea Spinacea* افزایش یافت و این افزایش توسط سرب نسبت به کبالت و روی، بیشتر بود (گتا و همکاران، ۲۰۱۸). افزایش آنتوسیانین متناسب با افزایش سرب و کادمیم در پژوهش‌هایی بر روی لوبیا (لیپیا و همکاران، ۲۰۰۸) و گوجه فرنگی (دوتانیا و همکاران، ۲۰۱۷) تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است. در پژوهشی که دژبان و همکاران (۲۰۱۵) بر گیاه *Robinia pseudoacacia* نشان داد، محتوی فلاونوئید در تمامی غلظت‌های سرب و کادمیم یعنی ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری را نشان نداد.

به طور کلی یکی از مهمترین اثرات فلزات سنگین، تحریک سنتز رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که منجر به تنش اکسیداتیو در سلول می‌شود، به طور مثال کادمیم، از طریق تشکیل کمپلکس با

پروتئین‌ها، جانشینی یون‌های فلزی در غشای پلاسمایی و تغییر در سیستم آنتی اکسیدان، باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه تنش اکسیداتیو می‌شود، رادیکال‌های آزاد تولید شده سپس با لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک برهم کنش کرده و باعث تغییر در متابولیسم لیپید و ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تجزیه غشا، افزایش تعداد اجسام لیپیدی در سیتوپلاسم و واکوئلی شدن آن و نیز افزایش تعداد پلاستوگلوبول در کلروپلاست و تغییر در تیلاکوئیدهای آن و در نتیجه تاثیر روی میزان متابولیت‌های ثانویه می‌شود، که این امر باعث تشدید تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (گائو و همکاران، ۲۰۱۷؛ گیلرمو و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج آزمایش حاضر نیز نشان داد با افزایش در مقدار کاربرد آرسنیک و کادمیم میزان آنوسیانین و فلاونوئید افزایش پیدا کرد.

پاسخ گیاهان به تنش کادمیم شامل پاسخ‌های عمومی و اختصاصی کادمیم می‌باشد. یکی از این پاسخ‌های عمومی، فعال شدن سیستم آنتی اکسیدان و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که اگرچه در غلظت‌های زیاد کادمیم باعث تحمل به این فلز نمی‌شود ولی برای بقای گیاه مفید می‌باشد (متولی و همکاران، ۲۰۰۳).

۹-۴ نتیجه گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد آرسنیک و کادمیم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید برگ اثر معنی داری دارند به طوری که با افزایش در کاربرد آرسنیک و کادمیم میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید برگ در گیاه بادرنجبویه به شدت کاهش نشان داد. وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک و طول ریشه بادرنجبویه نیز به طور معنی داری تحت تاثیر کاربرد آرسنیک و کادمیم قرار گرفت.

نتایج این آزمایش همچنین نشان داد میزان عناصر غذایی نیتروژن، پتاسیم و فسفر به شدت با کاربرد آرسنیک و کادمیم کاهش نشان می‌دهد به طوری که عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر به ترتیب از تیمار شاهد به کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک به ترتیب ۳۸/۳، ۴۳/۵ و ۱۶/۱ درصد

کاهش نشان دادند و در رابطه با کادمیم نیز به ترتیب ۱۸/۵، ۲۶/۴ و ۲۹/۱ درصد بود. نتایج این آزمایش همچنین نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ تحت تاثیر معنی دار کاربرد آرسنیک و کادمیم قرار گرفت و با افزایش تنش عناصر سنگین میزان فعالیت فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ بادرنجبویه نیز افزایش پیدا کرد. بر اساس نتایج این آزمایش وجود کادمیم و آرسنیک باعث تغییرات معنی دار در میزان آرسنیک و کادمیم بخش هوایی و ریشه در گیاه بادرنجبویه می شود، بر همین اساس بیشترین مقدار برای کادمیم و آرسنیک بخش هوایی به ترتیب برابر ۲۱/۷ و ۰/۸۵ میکروگرم در گرم بدست آمد و در ریشه نیز بیشترین مقدار به ترتیب برابر ۲۷/۳ و ۴۲/۲ میکروگرم در گرم مشاهده شد که در هنگام کاربرد ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم آرسنیک و کادمیم مشاهده شد.

به طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش باید بیان کرد که وجود آرسنیک و کادمیم در محیط رشد بادرنجبویه باعث کاهش شدید در خصوصیات مورفولوژیکی از جمله سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی و همچنین تجمع عناصر غذایی در این گیاه می شود که باید در حد امکان از کشت این گیاه در مناطق دارای تنش عناصر سنگین آرسنیک و کادمیم اجتناب کرد.

۴-۱۰ پیشنهادات

- ✓ این آزمایش روی سایر گیاهان نیز انجام شود تا پاسخ سایر گیاهان به غلظت‌های مختلف آرسنیک و کادمیم نیز مشاهده گردد.
- ✓ از آنجایی که در این آزمایش ۴ غلظت از کادمیم و آرسنیک مورد مطالعه قرار گرفت پیشنهاد می شود غلظت‌های بیشتر از ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک مورد بررسی قرار گیرند.
- ✓ اثر سایر عناصر سنگین بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک بادرنجبویه مورد مطالعه قرار گیرد.

مربع

امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. آشنایی با بادرنجبویه. چاپ اول، مشهد، انتشارات دفتر معاونت ترویج وزارت جهاد کشاورزی، ۲۰ صفحه.

ثوابقی غ. ر. و ج ملکوتی. ۳۶۹. اثرات روی و کادمیم بر غلظت عناصر و ترکیب شیمیایی دانه گندم. مجله آب و خاک ۶۴-۶۵: ۱۲(۹).

جعفری، ر. ۱۳۸۲. تأثیر بر هم کنش کادمیم و اسید سالیسیلیک بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه لوبیا. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت معلم تهران.

زرگری، ع. ۱۳۶۹. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم. جلد چهارم. ۹۲۳ صفحه.

زرگری، ع. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهارم، ۹۷۴ صفحه.

زمان، س. ۱۳۸۷. گیاهان دارویی. نشر ققنوس، ۳۷۰ صفحه.

شریعتی، م.، مددکار حق جو، م. (۱۳۸۶). فیزیولوژی گیاهی (جذب و انتقال مواد از خلال غشاء). انتشارات دانشگاه اصفهان. ویراست دوم. ۲۳۶ صفحه.

شمس الدین سعید، محدثه، پور قاسمیان، نسیم، (۱۴۰۰). بررسی واکنش های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه کوشیا به تنش همزمان شوری و کادمیم. تولیدات گیاهی. ۱۰: ۳۹-۵۵.

صادقی، ا.، و تقی زاده، م.، و سلگی، م. (۱۳۹۸). اثر سرب بر باززایی و تجمع فلزی *Brassica Oleracea Var. Acephala* در شرایط کشت درون شیشه‌ای. تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، ۴۲(۲)، ۲۶۵-۲۷۸.

صمصام شریعت، ه. ۱۳۸۲. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی، انتشارات مانی، چاپ دوم، ۴۰۰ صفحه.

عباسیان، ج. ۱۳۸۳. شناخت و تولید گیاهان دارویی و معطر. چاپ دوم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۹۰ صفحه.

فلوک، ه. ۱۳۷۹. "گیاهان دارویی". ترجمه: توکلی صابری، م و صداقت، م. چاپخانه گلشن تهران. جلد اول، ۲۶۴ صفحه.

کافی، م. و مهدوی دامغانی، ع. ۱۳۸۱. مکانسیم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۶۷ صفحه.

کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. ۱۳۸۸. فیزولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۰۲ صفحه.

نخجوان پور، ر. ۱۳۶۸. بررسی فتوشیمیایی، شناسایی ترکیبات اسانس و اثرات ضد قارچی گیاه بادرشبی. رساله دکتری. دانشکده داروسازی دانشگاه تهران.

هودجی، م.، و افیونی، م. ۱۳۸۸. اثر مصرف لجن فاضلاب و کلرید کادمیم بر انتقال این عنصر در خاک و جذب آن به وسیله گیاه. علوم و تکنولوژی محیط زیست. ۲(۱۱): ۵۷-۴۷.

یزدانی، د.، شهنازی، س.، سیفی، ح. ۱۳۸۳. کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد شهید بهشتی. چاپ اول. ۳۶۵ صفحه.

Abdel-Basset, R., Issa, A.A. and Adam, M.S. 1995. Chlorophyllase activity: effects of heavy metals and calcium. *Photosynthetica*. 31:421-425.

Abdel-Salam A.A., Salem H.M., and Seleiman M.F. 2015. Phytochemical Removal of Heavy Metal -Contaminated Soils. *Heavy Metal Contamination of Soils*. Springer International Publishing. 299-309.

Abou-Mouriefah, S. S. (2008). Growth parameters and elemental status of cucumber (*Cucumis Sativus*) seedlings in response to cadmium accumulation. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(3), 261-266.

Agarwal, S.K. 2002. Pollution Management: Water Pollution. A.P.H. Publ., New Delhi.

Ahamed M., and Siddiqui M.K. 2007. Low level lead exposure and oxidative stress. *Clinica Chimica Acta* 383: 57-64.

Ali A., Deng X., Hu X., Gill R.A., Ali S., Wang S., and Zhou W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica napus* L. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 63-74.

Alinezhad Jahromi H., Mohamadkhani A., and Salehi H. 2012. The Effect of Using Urban Wastewater of ShahreKord on Growth, Yield and Accumulation of Lead and Cadmium in Medicinal Plant Lemon Balm (*Melissa officinalis*). Water and Soil Science 16(60): 32-41.

Alizadeh, A Kazemzadeh Khoyi G, Nuri A, Pourang N, M. Investigation and Measurement of Heavy Metals of Nickel, Lead, Copper, Manganese, Zinc, Cadmium and Vanadium in Edible Vegetables. South Tehran Refinery Environ Res. 2012; 3(6): 65-74.

Azevedo Neto A.D. Prisco J.T. Ehneas-Filho J. Areu C.E.B. and Gomes-filho E, (2006)"Effects of salt stress on antioxidative enzymes and liquid peroxidation in leaves and roots of salt tolerance and salt sensitive maize genotypes." Environment Botany. 56,pp 81-94.

Awad, R., Muhammad. A., Durst, T., Trudeau, V.L., and Arnason, J.T., 2009. Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity. Phytother Res. 23: 1075-1081.

Babula, P., Adam, V., Opatrilova, R., Zehnalek, J., Havel, L. and Kizek, R. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. Environmental Chemistry Letters. 6: 189-213.

Bafeel S. 2010. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum*, to lead toxicity. Egyptian Society for Environmental Sciences 5(1): 1-7.

Bahanasawy, M., Khidr, A.A., and Dheina, N., 2009. Seasonal of Heavy Metals Concentrations in Mullet, Mugil Cephalus and Liza Ramada (ugilidae) from Lake Manzala, Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*. 5(7): 845-852.

Bahtyarca, N. and Bagdat, R. (2006). The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. *Journal of Agriculture*. 21: 116-121.

Barcelo, J. and Poschenreider, C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metals: a review. *Journal of Plant Nutrition*. 13: 1–37.

Baker A.J.M., and Brooks R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyper accumulate

metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81-26.

Barila LQ, Komar KM, Tu C, Zhang W, Cai Y, Kennelley ED. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*;409(6820):579.

Baroni F., Boscagli A., Protano G. and Riccobono F. 2000. Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environmental Pollution*. 109:347–352.

Baryl, A., Carrier, P., Franck, F., Coulomb, C., Sahut, C. and Havaux, M. 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*. 212:606-709.

Beers, G.R., Sizer, I.V., 1952. Aspectrophotometric method for measuring the break down of hydrogen peroxide by catalase. *Biological Chemistry*. 195, 133-140.

Benaroya, R.O., Tzin, V., Tel-or, E. and Zamsk, .E. 2004. Lead accumulation in the aquatic fern *Azolla filiculoides*. *Plant Physiol*. 42:639-645.

Bernal, M. P., Clemente, R., Walker, D. J. (2009). Interactions of heavy metals with soil organic matter in relation to phytoremediation. *Phytoremediation: the Green Salvation of the World*. Research Signpost, Kerala, India. p: 109-129.

Blackhadi, G., Parizanganeh, A. H., Zamani, A. & Saba, J. 2015. Phytoremediation of heavy metals contaminated environments: Screening for native accumulator plants in Zanzan-Iran. *International Journal of Environmental Research*, 9 (7), 309-316.

Boddi, B., Oravec, A.R. and Lehocski, E. 1995. Effects of cadmium on organization and photoreduction of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast inner membrane preparations of wheat. *Photosynthetica*. 31:411-420.

Boussama, N., Quariti, O. and Ghorbal, M.H. 1999. Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedling under cadmium stress. *Plant Nutr*. 22:731-75.

Boussen S., Soubrand M., Bril H., Ouerfelli K., and Abdeljaouad S. 2013. Transfer of lead, zinc and cadmium from mine tailings to wheat (*Triticum aestivum*) in carbonated

Mediterranean (Northern Tunisia) soils. *Geoderma* 192: 227-236.

Broadley M.R., White P.J., and Hammond J.P. 2007. Zinc in plants. *New Phytology* 173: 677-702.

Burd GI, Dixon DG, Glick BR. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Can J Microbiol* 46: 237–45.

Burzynski M., and Klobu G. 2004. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. *Photosynthetica* 42(4): 505-510.

Carbonell-Barrachina, A. A., Burlo, F., Lopez, E., Martinez-Sanchez, F. (1999). Arsenic toxicity and accumulation in radish as affected by arsenic chemical speciation. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*. 34. p: 661–679.

Campos V. and Faustino Pires M.A. 2004. Phytoremoval of arsenic from soil. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 35:2137–2146.

Chatterjee A, Das D, Mandal BK, Chowdhury TR, Samanta G, Chakraborti D.(1995)” Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part I. Arsenic species in drinking water and urine of the affected people.”; 120,pp 643-650.

Chen, F., Wu, F., Dong, J., Vincze, E., Zhang, G., Wang, F., Huang, Y., Wei, K. (2007). Cadmium translocation and accumulation in developing barley grains. *Planta*. 227. p: 223-232.

Chewil, M. 2009. Flowering biology and nectary structure of *Melissa officinalis* L. *Acta Agrobotanica*. 62(2): 23- 30.

Chooduhari M and Vosatka M, 2006. Response to cadmium of *Daucus carota* hairy roots dual cultures with *Glomus intraradices* or *Gigaspora margarita*. *Mycorrhiza* 15: 217–224.

Clemente, R., Dickinson, N.M., Lepp, N.W. (2008). Mobility of metals and metalloids in a multi-element contaminated soil 20 years after cessation of the pollution source

activity. Environ. Pollut. 155. p: 254–261.

Cosge B., Ipek A., and Gurbuz B. 2009. GC/MS analysis of herbage essential oil from lemon balms (*Melissa officinalis* L.) grown in Turkey. Journal of Applied Biological Sciences 3(2): 136-139.

Costa, G. and Morel, J.L. 1994. Water relations, gas exchange and amino acid content in cadmium treated lettuce. Plant Physiol. Biochem. 32:561-570.

Dat, J.F., Foyer, C.H. and Scott, I.M. 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedling. Plant Physiol. 118:1455-1461.

Da Rosa Correa, A. X., Rorig, L. R., Verdinelli, M. A., Cotellet, S., Ferard, J. F. and Radetski, C. M. (2006). Cadmium phytotoxicity quantitative sensitivity relationships between classical endpoints and antioxidative enzyme biomarkers. *Science of the Total Environment*, 357(1-3), 120-127.

Da Silva, A. P., Kay, B. D. and Perfect. E. 1994. Characterization of the least limiting water range of soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 58, 1775-1781.

De B., and Mukherjee A.K. 1998. Mercury induced metabolic changes in seedlings and cultured cells of tomato. Geobios 23: 83-88.

Dezhban T.A., Shirvany A., Attarod P., Delshad M., Matinizada M., and Khoshnevis M. 2015. Cadmium and lead effects on chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline of *Robinia pseudoacacia*. Journal of Forestry Research 26(2): 323-329.

Dotaniya M.L., Rajendiran S., Vassanda M., Coumar V.D., Meena J.K., Saha S., Kundu A., and Kumar A. K. 2017. Interactive effect of cadmium and zinc on chromium uptake in spinach grown in Vertisol of Central India. International Journal of Environmental Science and Technology 15(1): 462-477.

Drazic, G., Mihailovic, N. and Lojic, M. 2006. Cadmium accumulation in *Medicago sativa* seedlings treated with salicylic acid. Biol. Plant. 50:239-244.

Ebrahimpour, M., and Mushrifah, I., 2008. Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in Tasik Chini, Malaysia. *Environmental Geology*. 54: 689-

698.

Eisazadeh L, S., Asadi S., and Homaee M. 2015. Phytoextraction and estimating optimal time for remediation of Cd-contaminated soils by spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of Agroecology 4(2): 916-926. (In Persian).

Fitz, W. J., Wenzel, W. W. (2002). Arsenic transformations in the soil–rhizosphere–plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. Journal of Biotechnology. 99. p: 259-278.

Elzbieta W.C., and Chwil M. 2005. Lead-induced histological and ultra structural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L) Meee.). Soil Sciences and Plant Nutrition 51: 203-212.

Fodor, A., Szabo-Nagy, A. and Erdei, L. 1995. The effect of cadmium on the fluidity and H⁺-Atpase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. Plant Physiol. 14:787-792.

Fontes, R.L.S. and Cox, F.R. 1998. Zinc toxicity in soybean grown at high Iron concentration in nutrient solution. Crop Sci. 21:1723-1730.

Geetha S.M., Sandeep A., and Gharge S. 2018. Effect of metal on germination and proline accumulation in *Spinacia olerici*. International Journal of Current Research in Life Sciences 7(3): 1376-1380.

Ghani A. 2010. Effect of cadmium toxicity on the growth and yield components of mungbean World Applied Sciences. Special Issue of Biotechnology and Genetic Engineering 8: 26-29.

Giannopolitis, C. N., and Ries, S. K. (1997) Superoxid dismutase. I. occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Glick BR, Cheng Z, Czarny J, Duan J, 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminasecontaining soil bacteria. Eur J Plant Pathol 119: 329–39.

Greger, M. and Ogren, E. 1991. Direct and indirect effects of Cd²⁺ on photosynthesis in sugar beet. Plant Physiol. 83:129-135.

Guillermo, O., Noriega, K. B., Balestrasse, A. B. and Tomaro, M. L. (2007). Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of d-aminolevulinic acid. *Biometals*, 20(6), 841-851.

Gunes, A., Pilbeam, D. J., Inal, A. (2009). Effect of arsenic-phosphorus intraction on arsenic induced oxidative stress in chickpea plant. *Plant Soli*. 314. p: 211-220.

Guoa, B., Liang, Y. C., Zhu, Y. G. and Zhao, F. J. (2007). Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice root subjected to cadmium stress. *Environmental Pollution*, 147(3), 743-749.

Gupta S., Satpati S., Nayek S. and Garai D. 2010. Effect of wastewater irrigation on vegetables in relation to bioaccumulation of heavy metals and biochemical changes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 165: 169-177.

Hayat, Q., Hayat, SH., Irfan, M. and Ahmad, A. 2010. Effects of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Envi. and Exper. Botany*. 68:14-25.

He LY, Chen ZJ, Ren GD, Zhang YF, Qian M, Sheng XF, 2009. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. *Ecotox Environ Safety* 72: 1343-1348.

Husun Can Baser, K. 1997. Industrial utilization of medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*, 503:177-192.

Irrigoyen J.H. Emerich D.W. and Sanchez Diaz M, (1992) "**Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant.**" *Physiologia Plantarum*, 84,pp 55-66.

Jana K, Jana S, Samanta PK.(2006)" **Effect of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamo- pituitary- testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action.**" *Repord Biol Endocrinol*.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, 3(3), 65-76.

Johnson, C.M.A., Stout, P.R., Broyer, T C. and Carlton, A.B. 1957. Comparative chlorine requirements of different plants species. Plant Soil. 8: 337-353.

Kashif S.R., Akram M., Yasee M., and Ali S. 2009. Studies on heavy metals status and their uptake by vegetables in adjoining areas of Hudiara drain in Lahore. Soil Environmental 28: 7-12.

Kerante VM, Damjana D and Marjana R, 2008. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. Environ Poll 133: 233–242.

Khan S., and Khan N.N. 1983. Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersicon esculentum*) and egg plant (*Solanum melongena*). Plant and Soil 74: 387-394.

Kovacik, J. and Backor, M. (2007) Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. Water, Air and Soil Pollution 185: 185-193.

Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM. 1998 . Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiol Plant. 1998; 103: 1-7.

Kimura A, Ishida Y, Hayashi T, Wada T, et al. (2006)'' **Interferon plays protective roles in sodium arsenite-induced renal injury by up-regulating intrarenal multidrug resistance-associated protein 1 expression**'' The American Journal of Pathology); pp 1118-1128.

Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Plant Physiol. 165:920-931.

Lin, T., Zhu, X., and Zhang, F. 2012. The Interaction effect of cadmium and Nitrogen on *Populus yunnanensis*. Journal of Agricultural Science. 4 (2):125-134.

Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., and Benavides, M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd induced oxidative stress. *J. Plant Sci.* 169: 323-330.

Li W., Mao R., and Liu X. 2005. Effects of stress duration and non toxicions on heavy metals toxicity to *Arabidopsis* seed germination and seedling growth. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 16:1943-7.

Lippia H.B.K., Metwally A., Safronova V.I., Belimov A.A., and Dietz K.J. 2008. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany* 56: 167.

Liu, X., Zhang, S., Shan, X., Zhu, Y. G. (2005). Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amylolytic activity of wheat. *Chemosphere*. 61. p: 293-301.

Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Xu, X. Y., Su, Y. H., Mc Grath, S. P., and Zhao, F. J. (2008). Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105. p: 9931–9935.

Majari, K., Katsianis, G., Triantafyllou, P., and Zachariadis, G. 2001. Accumulation of heavy metals in vegetables grown in an industrial area in relation to soil. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 67: 3. 423-430.

Madhava Rao, O.K.V. and Sresty, T.V.S. 2000. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.* 157:113-128.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. UK: Academic Press Ltd.

Márquez, J.Y., Kim, K.W., Ahn, J.S., Ko, I., and Lee, C.H. 2015. Investigation and risk assessment modeling of As and other heavy metals contamination around five abandoned metal mines in Korea. *Environmental Geochemistry and Health*. 27: 2. 193-203.

Meharg, A. A., Cumbes, Q. J., Macnair, M. R. (1992). The genetics of arsenate

tolerance in Yorkshire fog, *Holcus lanatus* L.. *Heredity*. 69. p: 325–335.

Meharg, A. A. (1994). Integrated tolerance mechanisms – constitutive and adaptive plant- responses to elevated metal concentrations in the environment. *Plant, Cell & Environment*. 17. 989–993.

Mengel, K., and Kirkby, E. A. (2001). Principles of Plant Nutrition. Netherlands. Kluwer Academic Publishers. p: 849.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology*, 132, 272-281.

Miladinova K., Markovska Y., Tzvetkova N., Ivanova K., Geneva M., and Georgieva T. 2014. Photosynthesis and growth response of two Paulownia hybrid lines to heavy metals Cd, Pb and Zn. *Silva Balcanica* 15: 83-99.

Mohammadpourfard, I. & Shariatifar, N. (2015). Determination of Heavy Metals in Apricot and Almond Oils. *Iranian Journal of Health Sciences*, 3(1), 18-24.

Moore, R., Anderson, A. R., Ray, D., Walker, C., Pyatt, D. G., Evans, H. F., Carter, C. H., Straw, N. A., Wainhouse, D., Winter, T. G. (1995). Soil Biodiversity: a literature review. *Scottish Natural Heritage Riview*. 17. p: 80.

Moya J.L., Ros R., and Picazo I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research* 36: 75-80.

Nakano, Y., & Asado, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22(5): 867-880.

Naser H.M., Shil N.C., Mahmud N.U., Rashid M.H. and Hossain K.M. 2009. Lead, cadmium and nickel contents of vegetables grown in industrially polluted and non-polluted areas of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Agrilcultural Research* 34(4): 545-554.

Niebore, E. and Richardson, D.H.S. 1980. The replacement of the non-descript term heavy metals by a biological and chemically signification classification of metal ions.

Environ. Pollu (Series B). 1:3-26.

Onishi, Y. Arsenic, Chapter 33, In K. H. Wedepohl, (Ed). Handbook of geochemistry. Berlin: Springer-Verlag. (1969).

Orcutt, D.M. and Nilsen, E.T. 2000. The physiology of plant under stress: soil and biotic factors. John Wiley Pub. Pp. 481-517.

Paudyal, S.P., Aryal, R.R., Chauhan, S.V.S. and Maheshwari, D.K. 2007. Effect of heavy metals on growth of rhizobium strains and symbiotic efficiency of two species of tropical legumes. Scientific World, 5:322-325.

Peraza MA, Carter DE, Gandolfi AJ. (2003). " **Toxicity and metabolism of subcytotoxic inorganic arsenic in human renal proximal tubule epithelial cell (HK-2)**". Cell Biol Toxicol); 19(4) pp 253-64.

Pendy S, Gupta S, Saha R. 2020. Metal accumulation and its effects in relation to biochemical response of vegetables irrigated with metal contaminated water and wastewater. Journal of Hazardous Materials.;178(1):588-95.

Pereira G.J.G. Molina S.M.G. Lea P.J. and Azevedo R.A, (2002) "**Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in C.**" Juncea. Plant Soi. L 239, pp 123-132.

Pinto D., Fernandes A., Fernandes R., Mendes I., Pereira S., Vinha A., Herdeiro T., Santos E., and Machado M. 2011. Determination of heavy metals and other indicators in waters, soils and medicinal plants from Ave Valley, in Portugal, and its correlation to urban and industrial pollution. Science against microbial pathogens. In: A. Méndez-Vilas (ed.), communicating current research and technological advances. Spain. 303-309.

Pourghasemian N., Ehsanzadeh P., and Greger M. 2013. Genotypic variation in safflower (*Carthamus* spp.) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature and cadmium levels. Environmental and Experimental Botany 87: 218-226.

Qadir, S., M.I. Qureshi, S. Javed and M.Z. Abdin. 2004. Genotypic variation in phytoremediation potential of Brassica juncea cultivars exposed to Cd stress. Plant Sci. 167: 1171-1181.

Radotic C, Douay F. Heavy metals in soil Crops and Grass as a source of Human Exposure in the Former Mining Areas. J Soil Sediments. 2006; 6: 215-220.

Rai V., Vajpayee P., Singh S.N., and Mehrotra S., 2004. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, prolin level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. Plant Science 167: 1159-1169.

Ramus, E., and Greger, M. 2002. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. Environmental and Experimental Botany. 47: 3. 271-280.

Rastgoo, L. and Alemzadeh, A. (2011) Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science 5: 375-383.

Reser, P. and Emerson, P. 2007. Growth, root and leaf structure and biomass allocation in leucanthemum vulgare as affected by heavy-metal-containing slag. Plant Soil. 59:2461-2467.

Rizhsky, L., Liang, H. and Mittler, R. 2002. The combined effect of draught stress and heat shock on gene expression in tobacco. Plant Physiol. 130:1-9.

Roitto, M., Rautio, P., Julkunen-Tiitto, R., Kukkola, E. and Huttunen, S. (2015) Changes in the concentrations of phenolics and photosynthates in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings exposed to nickel and copper. Environmental Pollution 137: 603-609.

Romanowska E., Igamberdiev A., Parys E., and Gardestron P. 2002. Stimulation of respiration by Pb²⁺ ions in detached leaves and mitochondria of C3 and C4 plants. Plant Physiology 116: 148-154.

Rostami, H. M. Kazemi and S. Shafiei. 2012. Antibacterial Activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* L. Against Some Human Pathogenic Bacteria. Asian Journal of Biochemistry. 7(3): 133-142.

Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J. and Raskin, I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in indian mustard. Plant Physiol. 109:1427-1433.

Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomes, M., Romero-Puertras, M. and del Rio, L.A. 2001. Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Exp. Bot. 52:2115-2126.

Sanita di Toppi L., and Gabbrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

Shah, J. and klessig, D.F. 1999. Salicylic acid: signal perception and transduction. In: Hooykaas, P.P.J., Hall, M.A. and Libbenga, K.R. (eds). Biochemistry and molecular biology of plant hormones. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 513-541.

Sheyy, E. S. and S. R. Kaffka. 2002. Response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to saline soils and irrigation. I. Consumptive water use. Agric. Water Manag. 54: 67-80.

Sidhu G.P., Singh H.P., Batish D.R., and Kohli R.K. 2017. Tolerance and hyperaccumulation of cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) sm. (Brassicaceae). Ecotoxicology Environmental Safety 135: 209-215.

Siedlecka, A. and krupa, Z. 1999. Cd/Fe interactions in higher plants- it's consequence for the photosynthetic apparatus. Photosynthetica. 36:321-331.

Sienko, M. J., and plane, R. A. Chemistry, Cornell. University. Ithaca. New. york. 3rd Ed.(1961) 492-494.

Singh, B. and Myhr, K. 1998. Cadmium uptake by barley as affected by Cd sources PH levels. Geoderma. 84: 185 – 194.

Singh, R. J . 1993. Plant cytogenetis. CRC Press, USA.

Skórzyńska-Polit E., and Baszyński T. 1997. Differences in sensitivity of the photosynthetic apparatus in Cd-stressed runner bean plants in relation to their age. *Plant Science*. 128: 11-21.

Somashekaraiah, B.V., Padmaja, K. and Prasad, A.R.K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mungbean: involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Plant Physiol*. 85:85-89.

Subrahmanyam D., and Rathore V.S. 2000. Influence of manganese toxicity on photosynthesis in ricebean (*Vigna umbellata*) seedlings. *Photosynthetica* 38: 449-453.

Taghizadeh, M., Mohtadi, A. and Asemaneh, T. (2017). Investigating of copper effect on growth and physiological characteristics of nasturtium officinale. *Plant Productions*, 39(4), 101-114.

Tanialik, VD, Craker LE, Xing B. 2007. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, pepper-mint and basil. *Environ Exper Bot*. 2006;58(1):9-16.

Tao, Y., Zhang, Sh., Jian, W., Yuan, Ch., and Shan, X. Q. Effects of oxalate and phosphate on the release of arsenic from contaminated soils and arsenic accumulation in wheat, *Chemosphere*. 65 (2006)1281- 1287.

Thomas, S. Y., Choong, T.G., Chuah, Y.R., Koay, F.L., Azani, I. (2007). Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview. *Desalination*, 217, 139-166.

Tripathi, R. D., Srivastava, S., Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D. K., and Maathuis, F. J. M. (2007). **Arsenic hazards: Strategies for tolerance and remediation by plants**. *Trends Biotechnol*. 25. p: 158-165.

Turkan I., Bor M.O., zdemir F., and Koca H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168: 223-231.

Vassilev, A., Yordanov, I. and Tsonev, T. 1997. Effects of Cd^{2+} on the physiological state and photosynthetic activity of young barley plants. *Photosynthetica*. 34:293-302.

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

Verbruggen, N., Hermans, Ch., Schat, H. (2009). **Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants**. *Current Opinion in Plant Biology*. 12. p: 364-372.

Wang C., Tian Y., Wang X., Geng J., Jiang J., and Yu H. 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. *Ecotoxicology* 19: 1130-1139.

Wang, M., Chen, Y., Xia, X., LI, J. & Liu, J. 2014. Energy efficiency and environmental performance of bioethanol production from sweet sorghum stem based on life cycle analysis. *Bioresource Technology*, 163, 74-81.

Wenzel, W. W., Brandstetter, A., Wutte, H., Lombi, E., Prohaska, T., Stingeder, G., Adriano, D. C. (2002). Arsenic in field-collected soil solutions and extracts of contaminated soils and its implication to soil standards. *Plant Nutr. Soil Sci.* 165. p: 221-228.

WHO. (1993). **recommendations, guidelines for drinking-water quality, 2nd, 2, Geneva.**

WHO. (1998). Arsenic Compounds: Environmental Health Criteria.

Witte-Claus, P., Tiller-Sarah, A., Talor-Mark, A. and Davieshoward V. 2002. Addition of nickel to Murashige and Skoog medium in plant tissue culture activates urease and may reduce metabolic stress. *Plant Cell Tissue and Organ Cult.* 68:103-104.

Wolterbeek, H., van der Meer, A. (2002). Transport rate of arsenic, cadmium, copper and zinc in *Potamogeton pectinatus* L.: radiotracer experiments with ^{76}As , ^{109}Cd , ^{64}Cu and $^{65/69}\text{Zn}$. *The Science of the Total Environment*. 287. p: 13-30.

Xiaolong H., Hang H., Liping C., Aiqin L., Xiangqing M., Chuifan Z., Guo W., and Fanrui M. 2018. Pb stress effects on leaf chlorophyll fluorescence, antioxidative enzyme activities, and organic acid contents of *Pogonatherum crinitum* seedlings. *Flora* 240: 82-88.

Yadav, S. K. (2009). Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African Journal of Botany*. 76. p: 167–179.

Yaghoubian Y., Sayadat A., Moradi M., and Pirdashti H. 2016. Quantitative response of vegetative growth and chlorophyll components of the medicinal plant lemonbalm (*Melissa officinalis* L.) To the concentration of cadmium in the soil. *Journal of Plant Production Research* Volume 23. Number 2. (In Persian)

Yong Z., Hao-Ru T., and Ya L. 2008. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawbree cultivars with shortterm low temperature stress. *Journal of Agricultural Sciences* 4: 456-462.

Žaltauskaitė J., Mikalkevičiūtė L., Sujetovienė G., and Miškelytė D. 2017. Evaluation of heavy metals binary metals mixtures toxicity on spring barley *Hordeum vulgare*. *International Conference on Environmental Science and Technology Rhodes, Greece*.

Zhang, X., Lin, F., Jiang, Y., Wang, K., and Feng, X. 2009. Variability of total and available copper concentrations in relation to land use and soil properties in Yangtze River Delta of China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 155: 205-213.

Zhao, H., Zhao, Zh., An, L., Chen, T., Wang, X., Feng, H. (2009). The effects of enhanced ultraviolet-B radiation and soil drought on water use efficiency of spring wheat. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 94. p: 54-58.

Zho, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 53:247-278.

Zheljazkov V.D., Craker L.E., and Xing B. 2006. Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. *Environmental and Experimental Botany* 58(1): 9-16.

Zheljazkov VD, Craker LE, Xing B. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, pepper-mint, and basil. *Environ Exper Bot.* 2006; 58(1): 9-16.

Żukowska J, Biziuk M. Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. *Journal of Food Science.* 2008; 73(2): R21-R2.

Abstract

In order to investigate the effects of different cadmium and arsenic in the aerial parts and roots of Lemongrass plant, a potted experimental experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications in Shirvan Higher Education Complex in 1400. Experimental treatments included four levels of arsenic at $A_1 = 0$, $A_2 = 10$, $A_3 = 20$ and $A_4 = 30$ mg / kg soil from sodium arsenate source and four levels of cadmium at $C_1 = 0$, $C_2 = 10$, $C_3 = 20$ and $C_4 = 30$ mg / kg soil were from cadmium sulfate source. The results showed that the interaction of arsenic and cadmium had a significant effect on chlorophyll a and leaf carotenoids in lemongrass and reduced them. Fresh and dry shoot weight and dry weight as well as lemongrass root length were also significantly affected by the use of arsenic and cadmium. Meanwhile, the concentration of nitrogen, potassium and phosphorus in the leaves of Badabjavieh decreased with the use of arsenic and cadmium. This reduction in treatment of 30 mg / kg arsenic compared to the control for nitrogen, potassium and phosphorus were 38.3%, 43.5% and 16.1%, respectively. Cadmium was 18.5%, 26.4% and 29.1%, respectively. The activity of antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase in leaves was affected by the interaction of arsenic and cadmium and their activity increased with increasing concentration of cadmium and arsenic in soil. The concentrations of cadmium and arsenic in the aerial parts and roots of lemongrass were significantly changed in this experiment, so that the highest amount of cadmium and arsenic in the aerial parts were 21.7 and 0.85 micrograms per gram, respectively, and in the roots, respectively. Were 27.3 and 42.2 micrograms per gram of dry matter, respectively. These values were obtained when using 30 mg / kg of arsenic and cadmium. Based on the results of this experiment, it can be generally stated that the presence of arsenic and cadmium in the growing environment of lemongrass causes a decrease in the aerial part and roots of the lemongrass plant. The presence of these two elements also increased the activity of antioxidant enzymes and the accumulation of nutrients in the aerial parts and roots of this plant. These changes continued up to the level of 30 mg / kg of arsenic and cadmium soil.

Keywords: Antioxidant enzymes, roots, photosynthetic pigments, shoot dry weight.



Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc. Thesis in Agronomy

**Effect of different concentration of arsenic and cadmium on growth,
antioxidant enzyme activities and some physiological characteristics in
both shoot and root of lemon balm (*Mellissa officinallis* L.)**

By: Effat fakhre mohammadi

Supervisor:

Dr. M. Heidari

Advisor:

Dr. M. Babaeyan

Dr. M. Baradaran

January 2022