نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم
جلد۱۰، شماره ٤
تاریخ چاپ: تابستان ۱۳۹۱

اثرات کادمیوم بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه ذرت[1]

لطیفه پوراکبر: دانشگاه ارومیه

چکیده

گیاهان کشت شده در شرایط هیدروپونیک با کلرید کادمیوم، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار تیمار شدند. تغییرات پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی در ریشه‌ها و اندام هوایی گیاهان بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم وزن خشک ریشه، محتوای رنگیزه‌ای (کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها)، احیاء دی‌کلروفنل ایندوفنل (واکنش هیل)، محتوای نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (NR) کاهش یافت در صورتی‌که درصد نشت الکترولیت‌ها (ELP)، میزان اسید آمینه‌های آزاد، تیول‌های غیرپروتئینی (NPT)، آب اکسیژن آندوژنی و مالون دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی‌ها افزایش یافت.

مقدمه

آلودگی خاک با کادمیوم (Cd) از مشکلات اساسی زیستی محسوب می‌شود؛ زیرا افزایش Cd در سیستم‌های زیستی موجب آسیب‌رسانی به گیاهان و حیوانات و به‌همان اندازه انسان می‌شود [۲]. با وجود این‌که کادمیوم عنصری غیرضروری است، به وسیلهٔ گیاهان جذب می‌شود و توانایی تجمع در محصولات گیاهی را دارد. ریشهٔ گیاهان اولین محل برخورد با این یون است و غشای پلاسمایی سلول‌های آن به‌عنوان سد غشایی بزرگ بین سیتوپلاسم و محیط خاکی عمل می‌کند. بنا بر این واکنش بین کادمیوم و سلول‌های ریشه منجر به تغییر فیزیولوژیکی خواص غشای پلاسمایی سلول‌ها می‌شود که آن هم به‌نوبهٔ خود بر روی جذب و انتقال مواد غذایی تأثیر می‌گذارد. شواهد زیادی پیشنهاد می‌کند که چربی و پروتئین غشاها ممکن است به‌وسیله این فلز آسیب ببینند [۱].

کادمیوم باعث بسیاری از تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و ساختاری در گیاهان می‌شود که شامل مهار رشد و جوانه‌زنی [۲۹]، کاهش جذب عناصر معدنی، زردی برگ و نکروزه شدن آن‌ها [۳۹] ، تغییر ساختار سلول بالاخص کلروپلاست‌ها [۳۱] و تسریع پیری [۵] است. کادمیوم به‌طور مستقیم وغیرمستقیم فرایندهای فتوسنتز را مهار می‌کند [۲۵] و موجب کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌شود [۱۴]. کادمیوم همچنین موجب مهار محل اکسید کننده PSII در سطح کمپلکس آزاد کنندهٔ اکسیژن می‌شود [٤].

واژه‌های کلیدی: ذرت، سمیت کادمیوم، واکنش هیل، نشت الکترولیت، نیترات ردوکتاز، تیول های غیر پروتئینی، مالون دی‌آلدئید و آب اکسیژنه، گندمیان

دریافت ۸۸/۱۰/۱۲ پذیرش۸۹/۸/۲٤

1. *Zea mays* L.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

فالر[1] و همکارانش [۱۶] پیشنهاد کرده‌اند که یون‌های کادمیوم با یون‌های کلسیم در اتصال به محل PSII در طی فعال‌سازی نوری رقابت می‌کند. وحید[2] و همکاران [۴۲] پیشنهاد می‌کنند که کاهش فتوسنتز خالص در طی تنش کادمیوم در گیاهان می‌تواند به‌علت کاهش توانایی روبیسکو در تثبیت دی‌اکسید کربن باشد.

متابولیسم نیتروژن عمل‌کرد گیاه را در تمام سطوح از متابولیسم تا تخصیص منبع، رشد و توسعه تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۹]، [۳۸]، [۴۳]. به هر حال متابولیسم نیتروژن نشان داده شده است که با وجود Cd در گیاهان مختلف تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۳]. هرناندز[3] و همکاران [۲۲] نشان داده‌اند که Cd نه تنها جذب و انتقال نیترات را مهار می‌کند؛ بلکه همانندسازی نیترات را به وسیلهٔ مهار فعالیت نیترات ردوکتاز تحت تأثیر قرار می‌دهد. تیمار Cd می‌تواند افزایش آمونیوم درون‌زا را از طریق دآمیناسیون برخی اسید آمینه‌های آزاد و اشکال دیگر نیتروژن در پی داشته باشد [۳۸].

گیاهان دارای دو مکانیسم اصلی در برابر سمیت با کادمیوم هستند که یکی اجتناب از جذب فلز و دیگری خنثی کردن سمیت آن از طریق مکانیسم‌های اختصاصی است. مکانیسم اخیر با مداخلهٔ فیتوشلاتین‌ها (PCs) و متالوتیونین‌ها که غنی از ترکیبات سولفور با وزن مولکولی کم هستند و توانایی شلاته کردن فلز سنگین از طریق باقی‌مانده‌های سیستئین را دارند انجام می‌گیرد [۹]. تحقیقات نشان داده است که اعمال فلزات سنگین در گیاهان سنتز فیتوشلاتین‌ها (Pcs) و پپتیدهای مربوطه را القاء می کنند [۱۰]. این ترکیبات می‌تواند با فلزات سنگین پیوند و واکنش این فلزات را با پروتئین‌های سیتوزولی مهم کاهش دهند [۸].

فهم چگونگی اثر یون Cd بر رشد، فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان ممکن است در حل مشکلات ناشی از آلودگی فلزات سنگین بالاخص کادمیوم مؤثر باشد. بنابراین یکی از اهداف این تحقیق بررسی تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، به‌ویژه محتوای کلروفیل در برگ‌ها، جذب فلز و انتقال آن، تولید H_2O_2، پراکسیداسیون چربی‌ها، نشت یون‌های الکترولیت و نیز تغییر فعالیت برخی آنزیم‌ها، مثل NR و محتوای نیتراتی در پاسخ به تیمار Cd است که احتمال دارد در مسیر همانندسازی نیتروژن مؤثر باشد و همچنین شناسایی بعضی از مکانیسم‌های دخیل در کاهش رشد گیاه و تغییرات توسعه‌ای در برگ‌ها و ریشه‌های گیاه ذرت[1] به عنوان یک محصول مهم زراعی، از اهداف دیگر این کار تحقیقی بود.

مواد و روش‌ها

بذرهای ذرت بعد از تهیه از مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه، قبل از کشت به‌مدت ۱۰ دقیقه با محلول ۰/۱% $HgCl_2$ ضدعفونی و بعد به‌وسیله آب مقطر کاملاً شستشو داده شدند. ظروف پتری دیش به قطر ۹ سانتی‌متر قبل از اقدام به کشت به‌مدت دو ساعت در آون در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. در پایان پس از سرد شدن پتری دیش‌ها، در هریك از آن‌ها دو ورق کاغذ صافی گذاشته شده سپس با استفاده از پنس استریل

۱. Faller ۲. Wahid ۳. Hernandez

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

ده عدد بذر که ۱۲ ساعت قبل از کشت در داخل آب‌مقطر قرار گرفته و دورهٔ آماس را طی کرده بودند، در داخل آن‌ها کشت و سپس کلیه پتری دیش‌ها در داخل انکوباتور در ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت سه روز قرار داده شدند. سپس دانه‌رست‌های سه روزه به داخل ظرف‌های کشت محتوی ml ۳۰۰ محلول هوگلند منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی (CDR) با ۳ تیمار کادمیوم (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. برای تهیه محلول‌های کادمیوم، از کلرید کادمیوم ($CdCl_2$) استفاده گردید. دانه‌رست‌ها به مدت ۱۰ روز در اتاق کشت با دورهٔ نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نوری $\mu molm^{-2}s^{-1}$ ۱۵۰ (۱۰۰۰۰لوکس)، درجه حرارت $22/27^{\circ}C$ (روز/شب) و رطوبت ۸۵% قرار گرفتند. در طی این دوره گیاهان صرفاً در محلول هوگلند بدون اعمال کادمیوم قرار گرفتند که هر سه روز یک بار این محلول تعویض گشت. پس از گذشت ۱۵ روز گیاهان به داخل محلول هوگلند حاوی ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم منتقل شدند و به مدت ۲۰ روز با این فلز تیمار شده و سپس در کل بعد از گذشت یک ماه گیاهان برداشت شدند. طول ریشه و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای این کار گیاهان ذرت برای آزمایش برداشت گردیدند. بعد از اندازه‌گیری طول ریشه با یک خط‌کش، برای خشک کردن نمونه‌ها جهت تعیین وزن خشک و برخی آزمایش‌ها که نیاز به وزن خشک نمونه‌ها داشت، ریشه‌ها و اندام هوایی بعد از شست‌شو با آب‌مقطر در پاکت‌های مجزا قرار داده شدند و در آون ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. وزن خشک با ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گرفته شد.

اندازه‌گیری میزان کادمیوم

برای اندازه‌گیری میزان کادمیوم، ۰/۱ گرم از بافت خشک ریشه و اندام هوایی به طور جداگانه توزین شد و در محلول نیتریک- پرکلریک اسید (۳:۱ (v/v)) در دمای $100^{\circ}C$ و در طی ۶ ساعت هضم گردید و سپس میزان کادمیوم با دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA-670) اندازه‌گیری شد [۲۹].

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌ها

برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌ها از روش هیت[۱] و پاکر[۲] [۲۱] استفاده گردید. ۱ گرم بافت تر توزین و با ml ۲/۵ محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰% خوب له گردید. سپس محلول به‌دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتریفوژ مدل هرمل[۳] ساخت آلمان با سرعت rpm ۱۵۰۰۰ گذاشته شد بعد از عمل سانتریفوژ، حجم مساوی از عصارهٔ رویی و تیوباربیوتیک اسید ۰/۵% در تری کلرواستیک‌اسید ۲۰% به داخل لولهٔ آزمایش منتقل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در داخل انکوباتور $96^{\circ}C$ قرار داده شد. در نهایت لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه وارد آب یخ شد و سپس به مدت ۵ دقیقه در داخل سانتریفوژ با سرعت rpm ۱۰۰۰۰ گذاشته شد. جذب محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج‌های nm ۵۳۲ و nm ۶۰۰ اندازه‌گیری گردید. برای محاسبهٔ غلظت از ضریب خاموشی استفاده شد ($mM^{-1}cm^{-1}$ ۱۵۵ = ضریب خاموشی)[۲۱].

۱. Heath ۲. Packer ۳. Hermle

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها(ELP)

برای اندازه‌گیری ELP از روش لوتس[۱] و همکاران [۲۸] استفاده گردید. ۵ گرم بافت تر توزین شد و بعد از قرار دادن در داخل ظرف محتوی ml ۵۰ آب مقطر به مدت ۲٤ ساعت در روی شیکر (rpm ۱۰۰) در $25^{\circ}C$ قرار گرفت سپس هدایت الکتریکی محلول آن (EC_1) با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم $90^{\circ}C$ به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و برای بار دوم هدایت الکتریکی محلول بعد از سرد شدن تا دمای $25^{\circ}C$ با دستگاه اندازه‌گیری شد (EC_2). میزان ELP آن با استفاده از نسبت EC_1/EC_2 محاسبه شد.

اندازه‌گیری مقدار آب اکسیژنه

مقدار آب‌اکسیژنه با استفاده از روش جانا[۲] و چودهاری[۳] [۲۴] اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم بافت تر توزین و با ml ۳ بافر فسفات با pH برابر ۶/۸ له گردید. عصارهٔ حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در داخل سانتریفوژ مدل هرمل[٤] ساخت آلمان با سرعت rpm۶۰۰۰ گذاشته شد. برای تعیین میزان آب‌اکسیژنه ۳ میلی‌لیتر از عصارهٔ به‌دست آمده برداشته و روی آن ۱ میلی‌لیتر تیتانیوم‌کلراید ۰/۱% در سولفوریک‌اسید ۲۰%(v/v) اضافه گردید و محلول فوق به‌مدت ۱۵ دقیقه در داخل سانتریفوژ با سرعت rpm۶۰۰۰ گذاشته شد. جذب محلول زردرنگ حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ۴۱۰ اندازه‌گیری گردید. برای محاسبهٔ غلظت از ضریب خاموشی استفاده شد ($0/28\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ = ضریب خاموشی)[۲۴].

اندازه‌گیری پروتئین محلول

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول موجود در نمونه‌ها از روش فولن ـ لوری [۲۷] استفاده شد که اساس آن بر هیدرولیز پروتئین‌ها وآزاد شدن اسیدهای موجود در ساختمان پروتئین‌ها است که با معرف فولین سیوکالتئوکمپلکس رنگی ایجاد می‌کند، که شدت رنگ حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ٦٦۰ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌ها

برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌ها از روش دیر[۵] و همکاران [۱۳] استفاده شد. ۱ گرم از بافت تر برگ‌ها توزین شد و با ml ۵۰ استون۱۰۰% له و با تنزیب صاف گردید و عصارهٔ حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در داخل سانتریفوژ مدل هرمل ساخت آلمان با سرعت rpm۲۵۰۰ گذاشته شد و سپس برای تعیین میزان کلروفیل (Chl) a و b جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ۶۶۲ و nm ۶۴۵، برای تعیین کاروتنوئید کل (C_{X+C}) جذب آن در طول موج nm ۴۷۰ اندازه‌گیری شد. برای محاسبهٔ مقادیر کلروفیل a و b و همچنین کاروتنوئید کل از فرمول لیچتنالر[٦] و ولبرن[۷] [۲۶] استفاده شد.

۱. Lutts ۲. Jana ۳. Choudhuri ٤. Hermle ٥. Dere ٦. Lichtenaler ۷. Wellburn

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

$$Chl_a = 11.75\ A_{662} - 2.350\ A_{645}$$
$$Chl_b = 18.61\ A_{645} - 3.960\ A_{662}$$
$$C_{X+C} = 1000\ A_{470} - 2.270\ Chl_a - 81.4\ Chl_b/227$$

اندازه‌گیری واکنش هیل

برای اندازه‌گیری واکنش هیل از روش پاتسیکا[1] و همکاران [۳۳] استفاده گردید. ۱ گرم از بافت تر برگ توزین شد و با ml ۳ بافر فسفات که pH آن برابر ۷ بود و در حد انجماد سرد گردیده بود له شد.عصاره با تنزیب صاف شد و به‌مدت ۲ دقیقه با سرعت rpm ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ مدل هرمل ساخت آلمان سانتریفوژ شد و محلول رویی دور ریخته شد. روی رسوب باقی‌مانده ml ۳ بافر فسفات سرد اضافه شد و با قلم مو رسوب در محلول به حالت تعلیق درآمد. برای انجام واکنش هیل ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یاد شده برداشته و روی آن ۲ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات و ۰/۲ میلی‌لیتر محلول رنگی دی‌کلرو فنل ایندو فنل (DCPIP) افزوده شد و بلافاصله جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گرفته شد و سپس لوله را از دستگاه خارج و به‌مدت ۲۰ ثانیه در مقابل لامپ ۱۵۰ واتی قرارداده شد و بعد از ۲۰ ثانیه دوباره جذب اندازه‌گیری شد. این عمل به‌مدت ۵ دقیقه تکرار گردید. میزان احیای DCPIP بر حسب درصد شاهد محاسبه گردید.

اندازه‌گیری محتوای آمینواسیدهای آزاد

برای اندازه‌گیری محتوای آمینواسیدهای آزاد از روش کسیونگ[2] و همکاران [۴۴] استفاده گردید. ۰/۵ گرم از بافت تر برگ‌ها توزین شد و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۱۰% له گردید و حجم آن با آب‌مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از صاف کردن هموژنات با کاغذ صافی، برای تعیین آمینو اسیدهای آزاد ۰/۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ صاف‌شده برداشته و روی آن ۱ میلی‌لیتر بافراستیک‌اسید-استات سدیم، ۳ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۰/۱ میلی‌لیتر آسکوربیک اسید ۳% اضافه شد. محلول یاد شده به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری $^{\circ}C$ ۱۰۰ قرار گرفت. بعد از سرد شدن حجم محلول یاد شده با اتانول ۶۰% به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ۵۷۰ اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری تیول‌های غیرپروتئینی[3] (NPT)

برای اندازه‌گیری تیول‌های غیرپروتئینی از روش ادروا[4] و همکاران [۱۵] استفاده شد. ۰/۵ گرم بافت تر ریشه و برگ به طور جداگانه توزین شد و با ml۳ سولفوسالیسیلیک‌اسید ۵% (w/v) له گردید. عصارهٔ حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه با سرعت rpm ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. برای اندازه‌گیری تیول‌های غیرپروتئینی µL ۳۰۰ از

۱. Patsikka ۱. Xiong ۳. Non Protein Thiol ٤. Edreva

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

عصاره را با ml ۲ بافر فسفات که pH ای برابر با ۷/۶ داشت مخلوط و جذب آن در طول موج nm ۴۱۲ اندازه‌گیری شد و سپس روی آن ۲۵ میکرولیتر، ۲´،۲ دی‌نیترو- ۵-۵´- دی‌تیودی‌بنزوئیک‌اسید (DTNB)[۱] ۶ mM DTNB در داخل محلول ۵ mM EDTA و بافر فسفات ۰/۱ M با pH ۷/۶ حل گردید) افزوده و دوباره افزایش جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ۴۱۲ اندازه‌گیری گردید(ضریب خاموشی = ۱۳/۶۰۰ M^{-1} cm^{-1}) [۱۵].

اندازه‌گیری محتوای نیترات

برای اندازه‌گیری محتوای نیترات از روش کسیونگ و همکاران [۴۴] استفاده شد. ۱ گرم از بافت تر ریشه و ۲ گرم از بافت تر برگ‌ها توزین و به قطعات بسیار ریز خرد شد و در داخل لوله آزمایش به طور جداگانه قرار گرفت و سپس روی آن‌ها ml ۱۰ آب‌مقطر اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در داخل بن ماری جوشان قرارگرفتند و بعد از سرد شدن لوله‌ها محتوی آن‌ها با تنزیب صاف گردید و حجم عصاره با آب‌مقطر به ml ۲۵ رسانده شد. از عصارهٔ یاد شده ml ۰/۱ برای تعیین میزان نیترات برداشته شد و روی آن ml ۰/۴ سالیسیلیک اسید ۵% در سولفوریک اسید ۹۶% (W/V)افزوده و بعد از سرد شدن به محلول فوق ml ۹/۵ سود ۸% اضافه شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۴۱۰ اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد محتوای نیترات برای همهٔ بافت‌های آزمایش شده بر حسب $\mu g\ g^{-1}FW$ محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات‌ردوکتاز از روش کسیونگ و همکاران [۴۴] استفاده شد. ۱ گرم از بافت تر توزین شد و بعد از له کردن با ml ۹ نیترات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار سه بار و هر بار به مدت یک دقیقه با پمپ خلأ صاف گردید و محلول صاف شده به لوله‌های آزمایش منتقل شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور تاریک با درجه حرارت °C ۲۵ قرار گرفتند. بعد از این مدت، برای متوقف کردن فعالیت آنزیم نیترات‌ردوکتاز سریعاً ml ۱ تری کلرواستیک‌اسید ۳۰% به هر یک از لوله‌ها اضافه گردید. برای تعیین NO_2- N آزاد شده ml ۲ از محلول یاد شده برداشته و به یک لوله سانتریفوژ منتقل شد و روی آن ml۱ سولفانیلامید ۱% در کلریدریک‌اسید (۳ مول) و ml۱ N-(۱-نفتیل)-اتیلن دی‌آمیددی هیدروکلراید ۰/۰۲% اضافه شد. بعد از ۱۵ دقیقه به مدت ۵ دقیقه با سرعت rpm ۱۲۰۰ سانتریفوژ شد و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل LKB ساخت انگلیس در طول موج nm ۵۴۰ اندازه‌گیری گردید. فعالیت این آنزیم بر حسب درصد فعالیت آنزیم فوق در شاهد محاسبه گردید.

۱. 2, 2´ Dinitro-5-5´-dithio dibenzoic acid

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

برنامه‌های رایانه‌ای مورد استفاده

میانگین و انحراف استاندارد نمونه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس در برنامه‌های رایانه‌ای SPSS و Excel محاسبه گردید. در همهٔ شکل‌ها، ستون‌ها نمایندهٔ میانگین ۳ تکرار و بارهای عمودی نشان‌دهندهٔ انحراف استاندارد (SE ±) است. میزان معنی‌دار تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آزمون ANOVA در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج

بررسی علائم ظاهری در گیاهان ذرت شاهد و تحت تیمار کادمیوم، نشان داد که افزایش غلظت کادمیوم در گیاهان ذرت موجب بروز کلروز در برگ شد که این کلروز به‌صورت رنگ سبز متمایل به زرد در برگ‌ها مشاهده گردید (نشان داده نشده است).

نتایج حاصل از اثر کادمیوم بر طول ریشه‌ها، وزن خشک و میزان کادمیوم موجود در اندام هوایی و ریشه‌ها در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از بررسی‌ها بر طول ریشه در گیاهان تیمار دیده نشان‌گر آن است که با افزایش کادمیوم طول ریشه و وزن خشک آن کاهش می‌یابد. این تغییرات طبق جدول ۲ معنی‌دار است.

میزان مالون دی‌آلدئید(MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی‌ها بررسی شد و نتایج حاصل از آن در نمودار ۱الف نشان داده شده است. نتایج نشان‌گر آن است که میزان MDA در گیاهان تحت تیمار با کادمیوم در هر دو اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری ELP در نمودار ۱ ب نشان داده شده است. نتایج نشان‌گر آن است که درصد ELP با افزایش میزان کادمیوم افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی مقدار H_2O_2 آندوژنی در نمودار ۱ ج نشان داده شده است. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان‌گر آن است که مقدار H_2O_2 آندوژنی با افزایش غلظت کادمیوم در گیاهان تحت تیمـــار افزایش می‌یابد.

جدول ۱. اثر کادمیوم بر میزان طول، وزن خشک ریشه و میزان تراکم فلز کادمیوم در اندام هوایی و زمینی گیاه ذرت تفاوت موجود بین میانگین‌های هر ستون که با علامت * نشان داده شده است از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ بر اساس آزمون ANOVA معنی‌دار است

	غلظت کادمیوم (۰µ mol)	غلظت کادمیوم (۵۰µ mol)	غلظت کادمیوم (۱۰۰µ mol)
طول ریشه (cm)	۲۵ ± ۱/۳	۱۲/۶ ± ۰/۹ *	۲/۶ ± ۰/۲ *
وزن خشک ریشه (g)	۰/۶۵ ± ۰/۰۹	۰/۲۹ ± ./۰۵*	۰/۱۱ ± ./۰۰۹ *
میزان کادمیوم تجمع یافته در	۰	۳۷۰ ± ۱۲ *	۴۹۰ ± ۸ *
میزان کادمیوم تجمع یافته در	۰	۱۶۵ ± ۹/۶ *	۲۰۵ ± ۱۱ *

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

جدول ۲. جدول آنالیز واریانس اثر کادمیوم بر میزان طول، وزن خشک ریشه و میزان تراکم فلز کادمیوم در اندام هوایی و زمینی گیاه ذرت. تفاوت موجود بین میانگین‌های از لحاظ آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ بر اساس آزمون ANOVA معنی‌دار است

	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	F	Sig
طول ریشه	بین گروه‌ها	۷۶۸.۲۶۰	۲	۳۷۹.۰۰۳	۲۲۱.۷۸۳	۰.۰۰۰
	داخل گروه‌ها	۱۰.۲۵۳	٦	۱.۷۰۹		
وزن خشک	بین گروه‌ها	۰/٤٦٤	۲	۰/۲۳۲	۸۱.۳۲۷	۰.۰۰۰
	داخل گروه‌ها	۰/۰۱۷	٦	۰/۰۰۳		
محتوای کادمیوم ریشه	بین گروه‌ها	۳۹۰٦۲۰.۲۲۲	۲	۱۹۵۳۱۰.۱۱۱	۲۳۵٦.۲۸۸	۰.۰۰۰
	داخل گروه‌ها	٤۹۷.۳۳۳	٦	۸۲.۸۸۹		
محتوای کادمیوم اندام هوایی	بین گروه‌ها	٦۹۷٤۲.۸۸۹	۲	۳٤۸۷۱.٤٤٤	۸٤۱.٤۰۲	۰.۰۰۰
	داخل گروه‌ها	۲٤۸.٦٦۷	٦	٤۱.٤٤٤		

نتایج حاصل از بررسی مقدار پروتئین های محلول در نمودار ۱ د نشان داده شده است. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان‌گر آن است که میزان پروتئین‌های محلول با افزایش غلظت کادمیوم در گیاهان تحت تیمار در هر دو اندام هوایی و زمینی افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی مقدار کلروفیل a و b در برگ گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۲ الف نشان داده شده است . طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم میزان کلروفیل a و b هر دو در همهٔ گیاهان تحت تیمار کاهش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی مقدار کاروتنوئید کل در برگ گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۲ ب نشان داده شده است. طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم میزان کاروتنوئید کل در کلیه گیاهان تحت تیمار کاهش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی واکنش هیل در نمودار ۲ ج نشان داده شده است. طبق این نتایج واکنش هیل با افزایش غلظت کادمیوم در گیاه ذرت کاهش می یابد.

نتایج حاصل از بررسی مقدار آمینواسیدهای آزاد در برگ گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۲ د آورده شده است. طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم میزان آمینواسیدهای آزاد نیز افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی مقدار تیول‌های غیرپروتئینی در برگ و ریشه گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۳ الف آورده شده است. طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم میزان پروتئین‌های غیرتیولی در همهٔ گیاهان تحت تیمار هم در برگ و هم در ریشه افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از بررسی محتوای نیترات در برگ و ریشه گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۳ ب آورده شده است . طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم محتوای نیترات در همهٔ گیاهان تحت تیمار هم در برگ و هم در ریشه کاهش می یابد.

نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت نیترات ردوکتاز در برگ و ریشه گیاهان شاهد و تحت تیمار کادمیوم در نمودار ۳ ج آورده شده است. طبق این نتایج با افزایش غلظت کادمیوم میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در همهٔ گیاهان تحت تیمار هم در برگ و هم در ریشه کاهش می‌یابد.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

بحث

آلودگی خاک با دامنهٔ وسیعی از آلوده‌کننده برای گیاهان و جانوران، هر دو، موضوع مهمی در تحقیقات است. افزایش مقدار فلزات سنگین مثل کادمیوم در محیط زندگی امروزه واقعیتی انکارناپذیر است. نتایج حاصل از سنجش میزان کادمیوم در اندام هوایی و زمینی نشان‌دهندهٔ آن بود که کادمیوم بیش‌تر در اندام زمینی در گیاه ذرت تجمع می‌یابد. میزان جذب کادمیوم توسط گیاه و غلظت آن در گیاه به شرایط محیطی، فیزیولوژیکی و فاکتورهای بیوشیمیایی بستگی دارد. ریشه‌ها معمولاً محتوای کادمیوم بیش‌تری نسبت به اندام هوایی نشان می‌دهند؛ زیرا آن‌ها اولین اندامی هستند که در ارتباط با کادمیوم قرار می‌گیرند [۵]، [۲۰] و ریشه‌ها تا حد امکان از جابه‌جایی یون کادمیوم به اندام هوایی جلوگیری می‌کنند، بنا بر این به‌عنوان محلی اصلی نقش بسیار مهمی درغیرفعال‌سازی فلزات بازی می‌کنند [۵]، [۱۸]، [۲۰].

کاهش معنی‌دار در وزن خشک ریشه ناشی از اثر سمیت در این اندام است. به‌دلیل این‌که ریشه اولین اندامی است که در معرض سمیت قرار دارد و بیش از سایر اندام‌ها در معرض آسیب عوامل بیرونی قرار می‌گیرد می‌توان گفت که ریشه محل تجمع کادمیوم است و به‌طور مستقیم در معرض سمیت کادمیوم قرار دارد؛ اما سمیت کادمیوم در سایر قسمت‌های گیاه به‌طور غیرمستقیم است [۵]. اثر کاهش بیوماس ریشه و رشد آن در اثر مسمومیت کادمیوم در گیاهان، در تحقیقات گانکالوس[۱] و همکاران [۱۸] نیز گزارش شده است. رشد ریشه‌ها و وظیفهٔ آن‌ها به‌عنوان سطوح جذب‌کنندهٔ آب و مواد غذایی، به‌عوامل زیاد محیطی بستگی دارد. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدودکنندهٔ رشد ریشه است که این نیز ممکن است از عوامل کاهش وزن تر و خشک ریشه است [۵].

بررسی میزان پروتئین‌های محلول در این تحقیق مشخص کرد که با افزایش کادمیوم در محلول غذایی میزان پروتئین‌های محلول نیز در اندام هوایی و ریشه‌های گیاه ذرت افزایش می‌یابد. افزایش پروتئین‌های محلول شاید در ارتباط با سنتز پروتئین‌های ناشی در تنش باشد [۴۱]. پروتئین‌های استرس ممکن است در تشکیل آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز GSH و فیتوشلاتین‌ها و به‌همان اندازه آنتی‌اکسیدان‌ها و بعضی پروتئین‌های شوک حرارتی شرکت کنند [۳۰].

شواهد نشان می‌دهد که وجود فلزات سنگین در سلول، منتهی به تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌گردد [۳۴]. ROS ها مثل اکسیژن منفرد (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) به مولکول‌های زیستی (DNA، RNA و پروتئین‌ها) صدمه می‌زنند [۷]. افزایش تولید H_2O_2 در گیاه ذرت تحت تیمار کادمیوم در این تحقیق نشان‌دهندهٔ این موضوع است که به دلیل افزایش H_2O_2 احتمال افزایش تنش اکسیداتیو وجود دارد. پراکسید هیدروژن یک بخش سازنده اکسیداتیو متابولیسم گیاهی است و یک محصول عمده تولید شده واکنش‌های اکسیداتیو کلروپلاستی و پراکسیزومی است [۱۲]. H_2O_2 خود هم مانند گونهٔ فعال

۱. Gonçalves

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

اکسیژن عمل می‌کند زیرا H_2O_2 می‌تواند همچنین با رادیکال سوپراکسید وارد واکنش شود و رادیکال‌های هیدروکسیل فعال شده بیش‌تری را شکل دهد [۷].رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل آغازگر واکنش‌هایی است که موجب پراکسیداسیون چربی می‌شود [۷]. همچنین افزایش سطوح H_2O_2 آندوژنی هم موجب القای پیری و پراکسیداسیون چربی در گیاهان می‌گردد[۷]. مقدار MDA به عنوان یک شاخص سلولی پراکسیداسیون لیپیدها در این پژوهش سنجیده شد. افزایش MDA در برگ‌ها و ریشه‌های ذرت تحت تیمار کادمیوم نشان‌گر آن است که کادمیوم در این گیاه تنش اکسیداتیو را القاء کرده است. ساور[۱] و همکاران [۳۷] گزارش کرده‌اند که چربی‌ها به رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون چربی‌ها اولین نشانهٔ تنش اکسیداتیو است. کادمیوم با افزایش تولید H_2O_2 که همانند رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند موجب پراکسیداسیون چربی و تخریب تمامیت غشا و در نتیجه افزایش نشت یون می‌گردد. نتایج مشابه را دی توپی[۲] و گابریلی[۳] و [۳۶] و همچنین اوزونیدو[۴] و همکاران [۳۲] به دست آورده‌اند که نشان‌دهندهٔ آن است که فلزات سنگین به‌طور غیرمستقیم دپلاریزاسیون پتانسیل غشایی را به عنوان نتیجه‌ای از تخلیهٔ الکترونیکی پمپ-H^+ که ناشی از جذب پروتون به فضای داخل سلولی است القا می‌کند.

آسیب غشا با استفاده از دستگاه هدایت الکتریکی (EC) که برای اندازه‌گیری نشت مواد و یون‌ها از سلول‌ها استفاده می‌شود سنجیده شد. نتایج نشان می‌دهد که نشت یون‌ها همراه با افزایش غلظت Cd در محیط کشت افزایش می‌یابد که این نشان‌گر آن است که ساختار و عمل‌کرد غشای پلاسمایی سریعاً به‌وسیلهٔ فلزات سنگین تحت تأثیر قرار می‌گیرد که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش هاتاتا[۵] و عبدی-ال[۶] [۲۰]، بر روی گیاه آفتاب‌گردان هم‌سویی نشان می‌دهد. به‌هر حال چنین آسیبی ناشی از مکانیسم‌های مختلف شامل اکسیداسیون توسط گونه‌های فعال شده اکسیژن و یا تغییرات در نفوذپذیری است که ممکن است در مهار فعالیت H^+-ATPase غشای پلاسمایی شرکت کند [۲۰] که احتمالاً آن هم تغییر در ترکیب و سیالیت چربی‌ها را در پی دارد. نتایج به‌دست آمده در پژوهش میشرا[۷] و همکاران [۳۰] نشان‌دهندهٔ آن است که کادمیوم همانند فلزات دیگر بر روی پیوندهای محتوی نیتروژن و سولفور پروتئین‌ها اثر قوی دارد و پروتئین‌هایی که حاوی چنین پل‌هایی هستند موجب تخریب کانال‌های غشایی و نشت یون‌ها در تیمار با کادمیوم می‌شوند. محققان دیگر افزایش نشت یون‌ها در ریشه‌ها یا برگ‌ها را بر روی گونه‌های مختلف گیاهی که در معرض غلظت‌های مختلف Cd بوده‌اند نشان داده‌اند [۲۹] کاهش کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌عنوان اولین علایم ظاهری سمیت Cd در برگ مشاهده شد. کادمیوم می‌تواند بیوسنتز کلروفیل را به‌وسیلهٔ مهار کنندهٔ کلروفیلیدردوکتاز و هم انتقال الکترون فتوسنتزی را به‌وسیلهٔ مهارکنندهٔ آنزیم محلی شکافندهٔ آب در جای‌گاه اکسید کنندهٔ فتوسیستم II [۴۲] مهار کند. از سوی دیگر، واکنش استخلافی متقابل Cd و Mn در گیاهان ذرت مشاهده شده است. می‌دانیم که منگنز یک عنصر غذایی ضروری برای فرایندهای مهم مثل اکسیداسیون آب به‌وسیلهٔ PSII و برای آسیمیلاسیون NO_2 در کلروپلاست است[۱۷]، که این

Savoure di Toppi Gabbrielli Ouzounidou Hatata Abdei-Aal Mishra

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

می‌تواند به‌عنوان عاملی برای مهار انتقال الکترون در سطح کمپلکس شکافندهٔ آب و در نتیجه کاهش محتوای رنگیزهٔ کلروفیل و همچنین واکنش هیل را توجیه کند. کاهش در میزان کلروفیل و همچنین کاهش راندمان PSII که نسبت به Cd حساس‌تر است، کاهش در کارایی فتوسنتز را در پی دارد [۳۱].

نتایج، همچنین افزایش میزان تیول‌های غیرپروتئینی هم در ریشه و هم در اندام هوایی را نشان داد. تیول غیر پروتئینی (NPT) ترکیباتی هستند که شامل ترکیبات سولفیدریل مثل سیستئین، γ- گلوتامیل‌سیستئین، گلوتاتیون (GSH) و فیتو شلاتین هستند [۱۱]. GSH به‌عنوان آنتی اکسیدانتی شناخته شده است که نقش دفاعی در مقابل ROS دارد. فیتوشلاتین‌ها توانایی باند شدن با فلزات سنگین و سمی مثل Cd و Cu را دارند و القای تولید فیتوشلاتین‌ها به‌عنوان عامل بردباری و تحمل فلزات سنگین در گیاهان شناخته شده است [۱۰]. همچنین گروه‌های تیول غیرپروتئینی مخصوصاً گلوتاتیون دارای نقش‌های متعدد بسیار مهم در محافظت گیاهان از فاکتورهای تنش محیطی، بالاخص در مورد سمیت کادمیوم دارد[۴۰] پس افزایش در سطح ترکیبات تیولی در اثر اعمال کادمیوم به‌عنوان مکانیسم دفاعی دیگری در قبال تنش‌های اکسیداتیو است.

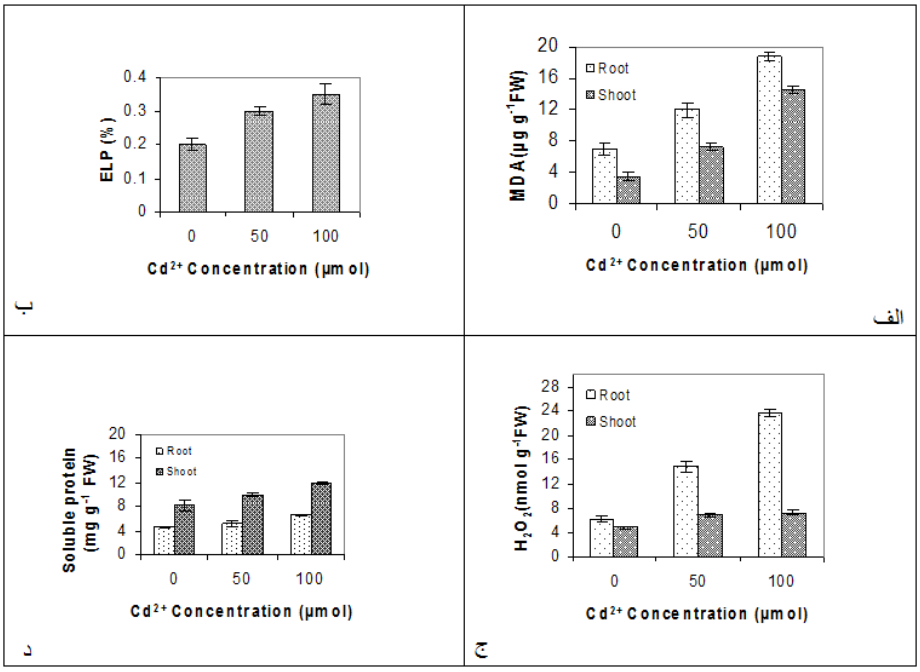
نتایج حاصل از آزمایش‌های اثر کادمیوم بر متابولیسم نیتروژن در این تحقیق نشان‌دهندهٔ آن است که کادمیوم اثر منفی بر متابولیسم نیتروژن دارد. کادمیوم مازاد می‌تواند فعالیت نیترات ردوکتاز(NR) و محتوای کل کلروفیل را کاهش و محتوای آمینواسیدهای آزاد را افزایش دهد. افزایش آمینواسیدهای آزاد در اثر اعمال کادمیوم اضافی می‌تواند نشان‌گر خاصیت سمیت‌زدایی آن در قبال سمیت کادمیوم باشد. کاهش فعالیت NR در صورت اعمال کادمیوم شاید ناشی از اثر مستقیم کادمیوم روی نیترات ردوکتاز باشد که با اتصال به گروه‌های سولفیدریل آنزیم را غیرفعال می‌کند. این آنزیم دارای دو جایگاه فعال است که در اولین جایگاه، NADH، FAD را احیا می‌کند و در دومین جایگاه نیترات به نیتریت احیا می‌شود. در این دو جایگاه سیستئین وجود دارد که با اتصال کادمیوم به آن آنزیم مهار می‌شود [۶]. اثر مستقیم دیگر کادمیوم روی فعالیت NR مربوط به تجزیهٔ این آنزیم با گونه‌های سمی اکسیژن تولید شده در طول تنش کادمیوم است [۳۵]. رادیکال‌های آزاد باعث تخریب پروتئین‌ها با واکنش اکسیداتیو یا افزایش فعالیت پروتئولیتیک می‌شوند. این رادیکال‌ها به NR حمله می‌کنند و فعالیت آن را کاهش می‌دهند. به‌علاوه کاهش فعالیت NR در مجاورت کادمیوم شاید ناشی از آسیب کادمیوم به فتوسنتز گیاهان باشد [۳۱]. براساس نتایج به‌دست آمده محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تیمار کادمیوم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که این موجب آسیب‌رسانی به فرایند فتوسنتز گیاهان به‌دلیل اثرات زیان‌بار کادمیوم می‌شود.

نتایج آزمایش‌ها نشان‌گر فعالیت بیش‌تر NR در برگ‌ها نسبت به ریشه‌های گیاهان تیمار شده است. دو احتمال این مشاهدات را توجیه می‌کند. اول این‌که غلظت کادمیوم مؤثر است. هر چه غلظت کادمیوم در ریشه‌ها زیادتر باشد احتمال مهار آنزیم بیش‌تر می‌شود. دوم آن که احیای نیترات به نیتریت به‌واسطهٔ NR اساساً در

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

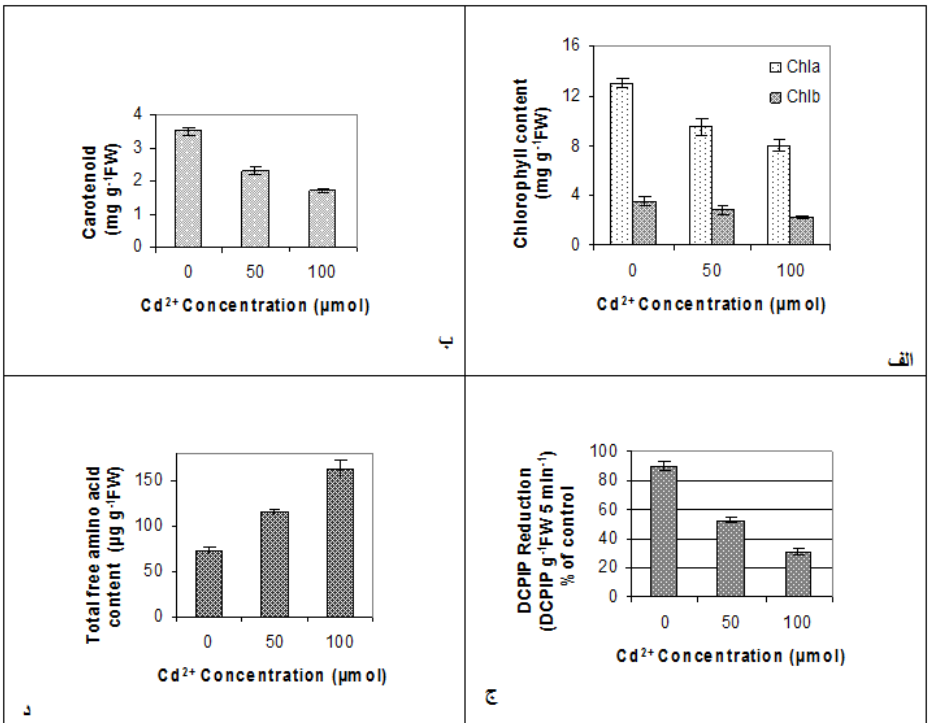
برگ‌ها انجـام می‌شود[۴۴]. علت کاهش نیترات در بافت‌ها شاید بـه‌این دلیل باشد کـه جذب نیترات در گیاهان تحت تیمار کادمیوم به‌علت سمیت، کاهش یافته است و سیستم‌های انتقال نیتروژن مختـل شده و در نتیجـــه مقدار آن در بافت‌ها کاهش یافته است.

در کل در این پژوهش نشان داده شده است که اعمال Cd می‌تواند علاوه بر مهار رشد گیاه ذرت به‌عنوان یک محصول مهم زراعی، دیگر فرایندهای فیزیولوژیک و متابولیک را نیز تحت تأثیر قرار دهد و با افزایش میزان آب‌اکسیژنه و MDA تنش اکسیداتیو را نیز در پی داشته باشد. کاهش محتوای کلروفیلی و کاراتنوئیدها در اثر این فلز به‌عنوان شاخص آسیب در سطح کلروپلاستی باشد که ممکن است کاهش راندمان فتوسنتز را در پی داشته باشد. علاوه بر آن مهار فعالیت آنزیم NR با وجود این که ریشه‌ها دارای Cd بیش‌تری نسبت به اندام هوایی هستند، بیش‌تر در اندام هوایی مشاهده گردید که این کاهش ممکن است دلیلی بر کاهش جذب نیترات باشد که رشد گیاه ذرت را می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد.

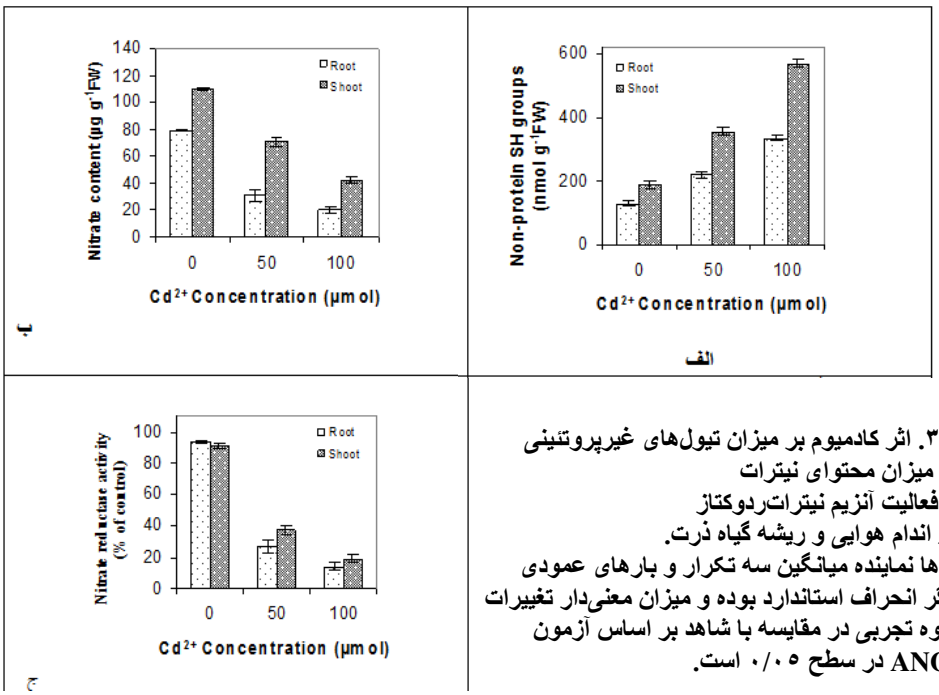


شکل ۱. اثر کادمیوم بر میزان MDA(الف)، میزان ELP ریشه (ب)، میزان H_2O_2 (ج) و پروتئین‌های محلول (د) در اندام هوایی و ریشه درگیاه ذرت. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشان‌گر انحراف استاندارد است و میزان معنی‌دار تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آزمون ANOVA در سطح ۰/۰۵ است.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]



شکل ۲. اثر کادمیوم بر میزان کلروفیل a و b (الف)، میزان کاروتنوئید(ب)، میزان واکنش هیل (ج) و آمینواسیدهای آزاد (د) در اندام هوایی گیاه ذرت. ستون‌ها نمایندهٔ میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشان‌گر انحراف استاندارد است و میزان معنی دار تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آزمون ANOVA در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۳. اثر کادمیوم بر میزان تیول‌های غیرپروتئینی الف)، میزان محتوای نیترات ب) و فعالیت آنزیم نیترات‌ردوکتاز ج) در اندام هوایی و ریشه گیاه ذرت. ستون‌ها نماینده میانگین سه تکرار و بارهای عمودی نشان‌گر انحراف استاندارد بوده و میزان معنی‌دار تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آزمون ANOVA در سطح ۰/۰۵ است.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Root length	Between Groups	758.007	2	379.003	221.783	.000
	Within Groups	10.253	6	1.709		
	Total	768.260	8			
Dry weight	Between Groups	.464	2	.232	81.327	.000
	Within Groups	.017	6	.003		
	Total	.482	8			
Root Cd content	Between Groups	390620.222	2	195310.111	2356.288	.000
	Within Groups	497.333	6	82.889		
	Total	391117.556	8			
Shoot Cd content	Between Groups	69742.889	2	34871.444	841.402	.000
	Within Groups	248.667	6	41.444		
	Total	69991.556	8			

منابع

1. S. Astolfi, A. Zuchi, C. Chiani, C. Passera, "In vivo and in vitro effects of cadmium on H^+ATPase activity of plasma membrane vesicles from oat (Avena sativa L.) roots", Plant Physiology, 160 (2003) 39-387.
2. S. Astolfi, S. Zuchi, C. Passera, "Effect of cadmium on H^+ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (Zea mays L.) plants", Plant Science, 169 (2005) 361-368.
3. S. Astolfi, S. Zuchi, C. Passera, "Role of sulphur availability on cadmiuminduced changes of nitrogen and sulphur metabolism in maize (Zea maysL.) leaves", Plant Physiology, 161 (2004) 795-802.
4. M. B. Bazzaz, A. Govindjee, "Effects of cadmium nitrate on spectral characteristics and light reactions of chloroplasts", Environmental Letters, 6 (1974) 1-12.
5. M. P. Benavides, S. M. Gallego, M. L.Tomaro, "Cadmium toxicity in plants", Brazilian Journal of Plant Physiology, 17 (2005) 21-34.
6. W. H. Campbell, "Nitrate reductase structure, function and regulation: bridging the gap between biochemistry and physiology", Annual Reviews of Plant Physiology, Plant Molecular Biology, 50 (1999) 277-303.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

7. J. Chen,C. Zhu, D. Lin, Z. X. Sun, "The effects of Cd on lipid peroxidation, hydrogen peroxide content and antioxidant enzyme activities in Cd-sensitive mutant rice seedlings", Canadian Journal of Plant science. 87 (2007) 49-57.

8. S. Clemens, E. J. Kim, D. Neumann, J. I. Schroeder, "Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast", European Molecular Biology Organization Journal, 18 (1999) 3325-3333.

9. S. Clemens, M. G. Palmgren, P. Kra¨mer, "A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation", Trends Plant Science, 7 (2002) 309-315.

10. C. S. Cobbett, "Phytochelatins and their roots in heavy metal detoxification", Plant Physiology, 123 (2000) 825-832.

11. C. De Vos, M. J. Vonk, R. V. Vooijs, H. Schat, "Glutathione depletion due to copper-induced hytochelatin synthesis causes oxidative stress in Silene cucubalus", Plant Physiology, 98 (1992) 853-858.

12. L. A. Del Rio, L. M. Saudalio, J. M. Palma, P. Bueno, F. J. Corpas, "Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications", Free Radical Medicine and Biology, 13 (1992) 557-580.

13. S. Dere, T. Guns, R. Sivaci, "Spectrophotometric determination of chlorophyll A, B and total carotenoid Contents of some algae species using different solvents", Turkish Journal of Botany, 22 (1998) 13-17.

14. M. Drazkiewicz, A. Tukendorf, T. Baszynski, "Age dependent response of maize leaf to cadmium treatment: effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatin accumulation", Plant Physiology, 160 (2003) 247-254.

15. A. Edreva, E. Hadjiiska, "About the determination of sulfhydril (thiol) group content in plant material", Bulgarian Journal of Plant Physiology, 10 (1984) 73-83.

16. P. Faller, K. Kiennzler, A. Krieger-Liszkay, "Mechanism of Cd^{2+} toxicity: Cd^{2+} inhibits photoactivation of photosystem II by competitive binding to the essential Ca site", Biochimestry and Biophysics. Acta, 1706 (2005) 158-164.

17. F. Fodor, "Physiological responses of vascular plants to heavy metals. In: Prasad, M.N.V., Strzalka, K. (Eds), Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands (2002) 149-177.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

18. J. F. Gonçalves, A. G. Becker, D. Cargnelutti, L. A. Tabaldi, L. B. Pereiva, V. Battisti, R. M. Spanevello, V. M. Morsch, T. Nicoloso, M. R. C. Schetinger, "Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in Cucumber seedlings", Brazilian Journal of Plant Physiology, 19 (2007) 223-232.

19. H. Gouia, M. H. Ghorbal, C. Meyer, "Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean", Plant Physiology, Biochemistry, 38 (2000) 629-638.

20. M. Hatata, E. Adel Abdel-Aal, "Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in response to Cadmium", Treatments American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 4 (6) (2008) 655-669.

21. R. L. Heath, L. Packer, "Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation", Archives of Biochemistry and Biophysics, 125 (1968) 189-198.

22. L. E. Hern´andez, A. G´arate, R. Carpena-Ruiz, "Effects of cadmium on the uptake, distribution and assimilation of nitrate in Pisum sativum", Plant Soil.189 (1997) 97-106.

23. Y. T. Hsu, M. C. Kuo, C. H. Kao, "Cadmium-induced ammonium ion accumulation of rice seedlings at high temperature is mediated through abscisic acid", Plant Soil, 287 (2006) 267-277.

24. S. Jana, M. A. Choudhuri, "Glycolate metabolism of three submerged aquatic anagiosperms during aging", Aquatic Botany, 12 (1981) 345-354.

25. Z. Krupa, T. Baszynski, "Some aspects of heavy-metals toxicity towards photosynthetic apparatus-direct and indirect effects on light and dark reaction", Acta Physiologia Plantarum. 17 (1995) 177-190.

26. H. K. Lichtenthaler, A. R. Wellburn, "Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents", Biochemical Society Transactions. 11 (1985) 591-592.

27. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randal, "Folin Cioalleu", Journal of Biochemistry. 193 (1951)265-267.

28. S. Lutts, J. M. Kinet, J. Bouharmont, "NaCl-induced senescence in leaves of rice (Oryza sativa L.) cultivar differing in salinity resistance", Annual of Botany. 78 (1996) 389-398.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

29. S. Mishra, S. Srivastava. R. D. Tripathi, R. Govindarajan, S. V. Kuriakose, M. N. V. Parasad, "Phytochelatin synthesis and response of antioxidant during cadmium stress in Bacopamonnieri L. Plant Physiology", Biochemestry. 44 (2006a.) 25-37.

30. S. Mishra, S. Srivastava, R. D. Tripathi, R. Kumar, C. S. Seth, D. K. Gupta, "Lead detoxify-cation by coontail (Ceratophyllum demersum L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation", Chemosphere, 65 (2006b) 1027-1039.

31. M. S. Monteiro, C. Santos, A. M. V. M. Soares, R. M. Mann, "Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce", Ecotoxicology and Environmental safety, 72 (2009) 811-818.

32. G. Ouzounidou, I. Ilias, H. Tranopoulou, S. Karataglis, "Amelioration of copper toxicity by iron on spinach physiology", Plant Nutrition, 21 (1998) 2089-2101.

33. E. Patsikka, E-M. Aro, E. Tyystjarvi, "Mechanism of copper-enhanced photoinhibition in thylakoid membranes", Physiologia Plantarum, 113 (2001) 142-150.

34. K. Radotic, T. Ducic, D. Mutavdzic, "Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium", Environtal and Experimental Botany, 44 (2000) 105-113.

35. D. C. Salo, R. E. Pacifici, S. W. Lin, C. Giulivi, K. J. A. Davies, "Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modi- fication and inactivation", Biology and Chemistry, 265 (1990) 11919-11925.

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

37. A. Savoure, D. Thorin, M. Davey, X. Hau, S. Mauro, V. Montagu, D. Inze, M. Verbruggen, "NaCl and $CuSO_4$ treatments trigger distinct oxidative defence mechanisms in Nicotiana plumbaginifoliaL. Plant Cell and Environment", 22 (1999) 387-396.

38. W. R. Scheible, R. Morcuende, T. Czechowski, C. Fritz, D. Osuna, N. Palacios-Rojas, D. Schindelasch, O. Thimm, M. K. Udvardi, M. Stitt, "Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of Arabidopsis in response to nitrogen", Plant Physiology, 136 (2004)2483-2499.

39. A. Stroinski, "Some physiological and biochemical aspects of plant resistance to cadmium effect", I. Antioxidative system, Acta Physiologia Plantarum, 21 (1999) 175-188.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]

40. M. Tiryakioglu, S. Eker, F. Ozkutlu, S. Husted, I. Cakmak, "Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance", Journal of Trace Element in Medicine and Biology, 20 (2006) 181-189.

41. S.Verma, R. S. Dubey, "Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants", Plant Science, 164 (2003) 645-655.

42. A. Wahid, A. Ghani, I. Ali. M. Y. Ashraf, "Effects of cadmium on carbon and nitrogen assimilation in shoots of mung bean [Vigna radiata (L.) Wilczek] seedlings", Journal of Agronomy and. Crop Science, 193 (2007) 357–365.

43. L. Wang, Q. Zhou, L. Ding, Y. Sun, "Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolism in leaves of Solanum nigrum L. as a newly found cadmium hyperaccumulator", Hazardous Materials, 154 (2008) 818-825.

44. Z.- T. Xiong, L. Chao, G. Bing, "Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in Brassica pekinensis Rupr", Ecotoxicology and Environmental Safety, 64 (2006) 273-280.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-02]