Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 49, No 1, Spring 2018 (183-196)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.218536.1110

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۷ (ص ۱۹۶-۱۸۳)

بررسی تأثیر تغذیهٔ برگی سیلیسیم بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه نعناع در شرایط تنش کادمیوم

مهری مهدوی[۱]، بهروز اسماعیل‌پور[۲*] و حمیده فاطمی[۳]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۲٤ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱/۲۹)

چکیده

سیلسیم دومین عنصر فراوان در کره زمین است که وجود یا کاربرد آن تأثیر زیانبار فلزهای سنگین را بهبود می‌بخشد. به‌منظور بررسی تأثیر سیلسیم در افزایش تحمل به آلودگی کادمیوم در نعناع، آزمایشی در سال ۹٤-۱۳۹۳ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل سطوح مختلف کادمیوم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و محلول‌پاشی متا سیلیکات سدیم در سطوح ۰ و ۱ میلی‌مولار بود. شمار گلدان‌ها در این آزمایش ۳۲ عدد بود که در هر گلدان یک بوته قرار داشت. صفاتی مانند ارتفاع بوته، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ساقه، شمار برگ، سطح برگ، وزن خشک ریشه، محتوای نسبی آب، رنگیزه‌های نورساختی (فتوسنتزی)، فعالیت آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، میزان پرولین، میزان کربوهیدرات‌ها، اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد، که اثر متقابل تنش کادمیوم و کاربرد سیلسیم بر صفات ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن خشک ساقه و اندام‌های هوایی و وزن تر ریشه، میزان پرولین، فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز، میزان سبزینه (کلروفیل)های a و b معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان کربوهیدرات‌ها، فعالیت آنزیم پراکسیداز، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، میزان سبزینه‌های a و b، ارتفاع بوته‌ها، وزن خشک ساقه و اندام‌های هوایی و سطح برگ‌ها در تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم و بدون کاربرد کادمیوم به دست آمد. درمجموع نتایج این پژوهش نشان داد، محلول‌پاشی گیاه نعناع با سیلسیم در افزایش محتوای سبزینه‌های a و b و وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ساقهٔ نعناع در شرایط تنش کادمیوم مؤثر بود.

واژه‌های کلیدی: تنش فلزهای سنگین، صفات فیزیولوژیک، متاسیلیکات سدیم.

Effect of Silicon nutrition on growth and physiology of spearmint (*Mentha spicata* L.) under Cadmium stress condition

Mehri Mahdavi[1], Behrooz Esmaielpour[2*] and Hamideh Fatemi[3]
1, 2, 3. Former M. Sc. Student, Associate Professor and Ph.D. Candidate, Faculty of Agricultural Science , Mohaghegh Ardabili University, Iran
(Received: Nov. 14, 2016 - Accepted: Apr. 18, 2017)

ABSTRACT

Silicon (Si) is the second most abundant element in the earth crust. Silicon has been shown to ameliorate the adverse effects of heavy metals on plants. In order to investigate the effects of silicon nutrition on tolerance of mint (*Mentha spicata* L.) to cadmium stress, a factorial experiment based on Completely Randomizad Design was conducted in four replications in research greenhouse of Mohaghegh Ardabili University at 2014-2015. Experimental factors included soil contamination by cadmium (0, 50, 100 and 250 mg/kg soil) and silicon nutrition (0 and 1 mM). The number of pots was 32 also in each pot one spearmint stand were planted. During this experiment, traits such as: plant height, plant dry weight, root and stem dry weight, leaf and stem number, leaf area, chlorophylls index, electrolyte leakage, relative water contents, chlorophylls a, chlorophylls b, total chlorophylls, enzyme activity of peroxidase, polyphenoloxidase, as well as proline, carbohydrates, caretenoids were measured. Results indicated the intractive effects of cd stress and si on plant height, leaf area, plant dry weight, stem dry weight, root wet weight, proline, activity of peroxidase, polyphenoloxidase, chlorophylls a, chlorophylls b, were significant. The highest value for carbohydrate, peroxidase, polyphenoloxidase, chlorophylls a, chlorophylls b, plant height, plant and stem dry weight, leaf area, root wet weight were obtained by foliar spraying of 1 mM concentration of silicon and without cd stress. In general, it can be concluded that foliar spraying of silicon is effective to increase total chlorophylls, plant dry weight, and stem dry weight under cd stress.

Keywords: Heavy metal stress, physiological traits, sodium metabisulfite.

* Corresponding author E-mail: behsmaiel@yahoo.com

مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران داشته و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند (Zargari, 2004). نعناع (*Mentha spicata* L.) با نام انگلیسی Spearmint متعلق به تیرهٔ نعناع Lamiaceae گیاهی علفی، چند ساله با برگ‌های بیضی‌شکل پهن، متقابل، ساقهٔ چهارگوش است که به علت وجود آنتوسیانین‌ها به رنگ بنفش دیده می‌شود. و ریشهٔ آن سطحی است. این گیاه به دلیل استفادهٔ دارویی و همچنین سبزی خوراکی اهمیت ویژه‌ای دارد. از مواد مؤثرهٔ نعناع، در صنایع داروسازی، صنایع غذایی، بهداشتی- آرایشی، شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و صنایع ادویه‌ای استفاده می‌شود (Omidbeigi, 2005).

امروزه یکی از مسائل زیست‌محیطی، آلوده شدن خاک زیر کشت گیاهان مختلف به فلزهای سنگین است (Bohnert *et al*., 1999).

آلودگی خاک به‌وسیلهٔ فلزهای سنگین با آلودگی آب یا هوا متفاوت است، چراکه فلزهای سنگین درون خاک به مدت طولانی‌تری نسبت به دیگر بخش‌های بیوسفر باقی می‌مانند و در خاک دوام و بقای بیشتری دارند (Lasat, 2002). معضل اصلی مربوط به فلزهای سنگین آن است که این آلاینده‌های غیرآلی برخلاف آلاینده‌های آلی تجزیه‌پذیر نیستند. این واقعیت، فلزهای سنگین را به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست‌محیطی تبدیل کرده است (Kabata-Pendias, 2001). واژهٔ فلزهای سنگین به فلزها و شبه‌فلزهایی که چگالی بیش از ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب دارند، گفته می‌شود (Adriano, 2001). افزایش میزان فلزهای سنگین به‌طور طبیعی و یا در نتیجهٔ فعالیت‌های انسانی در اراضی زراعی به‌ویژه به‌علت کاربرد کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها و یا ناشی از فعالیت‌های صنعتی است (Keller, 2000). اگر میزان این فلزها در خاک به حدی برسد که باعث کاهش فعالیت و تنوع میکروبی، کاهش حاصلخیزی خاک، صدمه به گیاه و حتی سلامتی انسان با ورود به زنجیرهٔ غذایی شود (Azevedo *et al*., 2005)، باعث آسیب‌های ناشی از تنش فلزهای سنگین می‌شود. از جمله فلزهای سنگین نیکل (Ni)، سرب (Pb)، جیوه (Hg)، مس (Cu)، کروم (Cr) و کادمیوم (Cd) هستند (Kafi *et al*., 2009). کادمیوم به دلیل داشتن سمیت زیاد و بدون علامت بودن این سمیت در غلظت‌های بالا مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Balestrasse *et al*., 2001). تأثیر کادمیوم برحسب نوع گیاه متغیر است (Das *et al*., 1997)، ولی در حالت کلی سبب کاهش رشد و نمو، تنش اکسایشی (اکسیداتیو)، اختلال در غشای پلاسمایی، اختلال در جذب مواد غذایی در گیاه می‌شود (Balestrasse *et al*., 2001). در انسان نیز سبب ایجاد بیماری‌های استخوانی، آماس شش‌ها، نارسایی کلیه‌ها و کبد، بیماری‌های قلبی عروقی و بالا رفتن فشارخون می‌شود (Rahimi & Ronagi, 2012). این عنصر از راه کانی‌کاری، صنعت، سوخت‌های فسیلی و ضایعات صنعتی وارد هوا می‌شود. ترکیب‌های کادمیوم در هوا می‌تواند فاصله‌های طولانی را پیش از ورود به آب یا خاک طی کند. همچنین، کودهای فسفری میزان زیادی کادمیوم دارند که باعث تجمع زیاد این فلز سنگین آلاینده در خاک خواهند شد (Lefèvre *et al*., 2009). کادمیوم از طریق ریختن ضایعات خطرناک وارد آب‌وخاک می‌شود و پیوند محکمی با ترکیب‌های خاک ایجاد می‌کند (Jafarnejadi *et al*., 2013). کادمیوم اگرچه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما این فلز به‌آسانی از راه پوست ریشه جذب می‌شود و پس از آن از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود (Sanita & Gabbrielli, 1999).

کادمیوم با تولید مواد اکسیدکننده مانند سوپر اکسید هیدروژن، جلوگیری از فعالیت سامانهٔ پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث تنش‌های اکسایشی می‌شود (Hsu & Kao, 2007). چنین تغییرپذیری‌هایی ممکن است عملکرد غشای پلاسمالم و تعادل یونی (به‌ویژه K^+ و بیشتر یون‌های متحرک عرض غشای یاخته‌ای) در سیتوپلاسم را به هم زده و باعث اختلال در عملکرد غشای یاخته‌ای شوند (Pandey & Sharma, 2002). این عنصر با ایجاد اختلال در سوخت‌وساز (متابولیسم) نیتروژن از راه

مهار فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند گلوتامین سینتتاز، گلوتامات سینتتاز و نیترات ردوکتاز و همچنین فرایند احیای نیترات سبب کاهش تولید پروتئین‌ها شده و رشد را متوقف کند (Zhang *et al.*, 2002). همچنین با مهار فعالیت آنزیم‌های چرخهٔ کالوین از جمله روبیسکو و زنجیرهٔ انتقال الکترون و آسیب به یاخته‌های روزنه‌ای، باعث کاهش نورساخت (فتوسنتز) و رشد می‌شود (Wang *et al.*, 2008). از دلایل دیگر سمیت ناشی از کادمیوم در گیاهان، تأثیر کادمیوم بر جذب و توزیع عنصرهای غذایی در گیاه است که می‌تواند دلیل برخی کمبودهای عنصرها در گیاهان باشد که باعث بر هم خوردن تعادل عنصرهای غذایی و کاهش باروری گیاه می‌شود (Dudka *et al.*, 1996).

آلوده شدن خاک‌های کشاورزی به فلزهای سنگین یک تهدید جدی است، زیرا رشد و کیفیت محصولات کشاورزی را کاهش داده و سلامتی مصرف‌کننده‌ها را به خطر می‌اندازد. بنابراین کاهش آلودگی فلزهای سنگین در خاک، نقش مهمی در توسعهٔ کشاورزی ایفا می‌کند (Cheng & Huang, 2006). نتایج یک بررسی در رابطه با آلودگی خاک‌های استان اردبیل به فلز سنگین کادمیوم نشان داد، میزان آلودگی خاک‌های زراعی به کادمیوم حدود ۲۰ برابر خاک‌های غیر زراعی بود و بیشتر این آلودگی ناشی از کاربرد بیش‌ازحد کودهای شیمیایی و استفاده از آب‌های آلوده برای آبیاری بود (Bahrampour *et al.*, 2013).

امروزه با استفاده از روش‌های درجا[1] و غیردرجا[2] تلاش‌های زیادی برای رفع آلودگی از خاک‌های آلوده می‌کنند. اما نکتهٔ قابل توجه این است که هیچ‌یک از این روش‌ها راه‌حل قطعی برای اصلاح خاک‌های آلوده نبوده و اغلب ممکن است برای بهینه‌سازی فعالیت پاک‌سازی، تلفیق بیش از یک روش لازم باشد (Tabande, 2015). سیلیس یا سیلیسیم دی‌اکسید با فرمول شیمیایی SiO_2 فراوان‌ترین ترکیب اکسیدی موجود در پوستهٔ زمین پس از اکسیژن است و در طبیعت به‌صورت آزاد و یا به‌صورت ترکیب با دیگر اکسیدها وجود دارد (Sposito, 2010). این عنصر در خاک به دلیل ترکیب با دیگر عنصرها به شکل سیلیکات و یا اکسید در آمده که نامحلول بوده و گیاه به آن دسترسی ندارد، اما به‌طورمعمول در محلول خاک نیز به شکل مونوسیلیک‌اسید (H_4SO_4) در غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۶ میلی‌مولار وجود دارد و گیاهان این عنصر را به همین شکل جذب می‌کنند، پس از جذب توسط گیاه، این عنصر به شکل بسپاری (پلیمری) از سیلیس بی‌شکل آبپوشی شده روی روپوست (اپیدرم) و بافت‌های مختلف تجمع می‌یابد (Epstein, 2009).

سیلیسیم به‌عنوان عنصری که باعث کاهش انواع تنش‌ها مانند سمیت عنصرها، شوری، خشکی و سرمازدگی می‌شود، شناخته شده است و با تحریک سامانهٔ پاداکسندگی در تشکیل کمپلکس با فلزهای سنگین و انتقال فلزها، گیاه سنگین به اندام‌هایی مانند واکوئل یاخته‌های گیاهی باعث کاهش اثر تنش و سمیت فلزهای سنگین در گیاهان می‌شود. محققان در بررسی‌های خود چنین نتیجه‌گیری کردند که کادمیوم به‌طور معنی‌داری وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی ذرت را کاهش داد و کاربرد توأم کادمیوم با سیلسیم از سمیت کادمیوم در گیاه ذرت جلوگیری کرده و مصرف سیلسیم باعث افزایش عملکرد گیاه ذرت شد (Liang *et al.*, 2005). کاربرد سیلیسیم از منبع متاسیلیکات باعث کاهش اثر سمیت کادمیم بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک چغندر لبویی شد (Behtash *et al.*, 2005).

معلوم شده است، محلول‌پاشی سیلیکات سدیم بر کنترل تعرق و افزایش مقاومت برگی تأثیر دارد. کاربرد سیلیسیم از راه تأثیر بر حرکت روزنه‌ها (Gao *et al.*, 2006). کاهش قطر منافذ آن‌ها منجر به کاهش تعرق می‌شود (Datnoff *et al.*, 2001).

محققان دلایل اثر سودمند مصرف سیلسیم در ایجاد مقاومت گیاهان برنج به کادمیوم را به ترتیب جلوگیری از جذب و انتقال کادمیوم، توقف انتقال کادمیوم از مسیر آپوپلاست و انتقال کادمیم به واکوئل توسط سیلسیم را بیان کرده‌اند (Chen *et al.*, 2000). محققان در نتایج بررسی‌های دیگر گزارش کردند، سیلسیم باعث کاهش تجمع کادمیوم در سیمپلاست

1. In situ
2. Non-in situ

شده و مصرف سیلسیم باعث رسوب کادمیوم در دیوارهٔ یاخته‌ای گیاه برنج شده و بدین طریق مصرف سیلسیم باعث ایجاد مقاومت نشاهای برنج در برابر کادمیوم شد (Wang *et al*., 2000).

امروزه به علت فعالیت‌های انسانی و گسترش صنعت و ورود فاضلاب‌های صنعتی، مواد شیمیایی و آفت‌کش‌ها به خاک‌های کشاورزی و مسئلهٔ آلودگی به فلزهای سنگین، لزوم تأمین سلامت غذایی جامعه را بیش‌ازپیش آشکار می‌کند. ازآنجاکه نعناع به‌عنوان یک سبزی و گیاه دارویی به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم در سبد غذایی افراد جامعه قرار دارد و با توجه به مصرف بالا و کشت این گیاه در زمین‌های آلوده به فلزهای سنگین اطراف شهرستان اردبیل (Aligadr *et al*., 2007). که کاربرد کودهای شیمیایی در آن‌ها برای چندین سال صورت گرفته و یا در سبزیکاری‌ها با آب‌های نامتعارف، فاضلاب‌ها و پساب کارخانه‌ها و واحدهای صنعتی، خطر تجمع عنصرهای سنگین و به‌ویژه کادمیوم در گیاه افزایش می‌یابد و سلامتی افراد مصرف‌کننده را با مخاطرهٔ جدی روبه‌رو می‌سازد. بر پایهٔ این تحقیق برای ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی سیلسیم در کاهش سمیت فلز سنگین کادمیوم در گیاه نعناع انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی سیلسیم در کاهش سمیت فلز سنگین کادمیوم در گیاه نعناع به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانهٔ تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۳ با چهار تکرار انجام شد، عامل‌های آزمایشی شامل کادمیوم (کلرید کادمیوم) در غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌عنوان عامل اول و سیلسیم (متاسیلیکات سدیم) در دو غلظت ۰ (شاهد) و ۱ میلی‌مولار به‌عنوان عامل دوم در نظر گرفته شد. خاک مورد استفاده از سبزیکاری‌های اطراف شهرستان اردبیل تهیه شد و بافت خاک به روش هیدرومتری، میزان مادهٔ آلی به روش الکی بلاک (Nelson & Sommers, 1982)، اسیدیته با دستگاه pHمتر، قابلیت هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت الکتریکی‌سنج (Ec) متر و میزان کربنات کلسیم معادل به روش لوپرت (Loeppert & Donald, 1996.) موجود در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شدند و با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش‌ها، خاک مطلوب انتخاب شد. نتایج تجزیهٔ آن در جدول ۱ بیان شده است.

به‌منظور آلودگی خاک، محلول کلرید کادمیوم در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه‌شده به‌طور یکنواخت روی خاک موجود در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی محلول‌پاشی و به‌طور کامل با خاک مخلوط شد. آنگاه خاک آلوده هر دو هفته یک‌بار با آب دیونیزه مرطوب گشته و سپس هوا خشک شد. این تر و خشک شدن متناوب حدود پنج مرتبه تکرار شد، تا به شرایط آلودگی درازمدت و طبیعی نزدیک‌تر شود (Noha *et al*., 2013). یک عدد از نیساگ (ریزوم)های نعناع بومی منطقهٔ اردبیل به طول ۱۰ سانتی‌متر در عمق ۶ سانتی‌متر خاک قرار گرفت و آبیاری صورت گرفت و در گلخانه با دمای ۲۲ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد و میانگین شدت نور ۴۳۴ لوکس قرار داده شدند. یک ماه پس از کاشت نیساگ و مستقر شدن گیاه محلول‌پاشی سیلسیم با غلظت ۱ میلی‌مولار صورت گرفت. برای تهیهٔ محلول ۱ میلی‌مولار سیلیسیم (متاسیلیکات سدیم ۵ آبه $SIO_3Na_2.\ 5H_2O$) در آب مقطر حل شد در ساعت چهار بعدازظهر و در هوای صاف و ملایم بر اندام‌های هوایی گیاه محلول‌پاشی اعمال شد، به‌طوری‌که برگ‌های گیاه کام خیس شدند و گیاهان شاهد نیز با آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

جدول ۱. نتایج برخی ویژگی‌های مهم فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. The physical and chemical properties of soil

EC (dsm^{-1})	pH	$CaCO_3$ (%)	Organic carbon (%)	Nitrogen (%)	Potassium (%) (ppm)	Phosphorous (ppm)	Soil texture	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
4	7.3	19.1	14.5	0.12	0.05	3.8	Sandy loam	14	36	50

اندازه‌گیری صفات مورد بررسی

داده‌برداری از گیاهان حدود سه ماه پس از کاشت صورت گرفت و ویژگی‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژی) شامل شمار برگ، شمار ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، وزن خشک ساقه و سطح برگ (با دستگاه سطح‌سنج مدل ADC) اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های بیوشیمیایی از جمله محتوای سبزینه (کلروفیل)ها و کارتنوئیدهای برگ با استفاده از روش آرنون اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر استون حل شد، محلول در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شد و پس از گردآوری محلول رویی جذب نوری در طول‌موج‌های۴۷۰، ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ نانومتر خوانده شد (Arnon, 1949).

$$Clha = (12.25)\ (A\ 663.2)-(2.798)\ (A\ 646.8)$$

$$Clhb = (21.24)\ (A\ 646.8)-(5.1)\ (A\ 663.2)$$

$$ClhT = Clha+Clhb$$

$$Car = (1000\ A\ 470 - 1.8Clha - 85.02\ Clb/198)$$

برای اندازه‌گیری شاخص محتوای نسبی آب (RWC) حدود ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته‌تر (fw) به مدت ۲۴ ساعت در آب دیونیزه قرار داده و توزین شد (tw) سپس به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده و پس از توزین با استفاده از رابطهٔ زیر تعیین شد (dw) (Ritchie, 1990).

$$RWC = [\ (fW - dW) / (tW - dW)] \times 100$$

برای اندازه‌گیری میزان پرولین حدود ۰/۱ گرم از بافت برگی جوان در ۲ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید حل شد و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس و سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس در فالکون دیگری ۱ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسیداستیک گلایسال خالص و ۱ میلی‌لیتر عصارهٔ به‌دست‌آمده ریخته شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن ماری قرار گرفتند و پس اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر تولوئن به هرکدام از لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه تکان داده (ورتکس) شد پس از تشکیل دو لایهٔ (فاز) جداگانه لایهٔ رنگی بالایی با دقت جدا و میزان جذب در طول‌موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد (Bates *et al.*, 1973)، برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۱ گرم بافت برگی در ۱ میلی‌لیتر الکل ۹۵درصد حل و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شد. پس از جداسازی محلول رویی دو بار و در هر بار ۱ میلی‌لیتر الکل ۷۰درصد به آن اضافه شد (همهٔ موارد در حمام یخ و نور کم انجام شد). عصاره ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور دقیقه سانتریفوژ شد. پس از جداسازی محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته شد و پس از اضافه کردن ۳ میلی‌لیتر آنترون به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل‌اکسیداز به روش‌های زیر صورت گرفت. در آغاز استخراج عصارهٔ پروتئینی برگ: برای این منظور ۰/۰۵ از بافت برگی توزین شد و با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات۵۰ میلی‌مولار pH= ۶/۸ در یک هاون چینی و در حمام یخ همگن‌سازی (هموژنیزه) شد. هموژنات همراه با ۱ میلی‌لیتر از محلول حاصل از شستشوی هاون درون لولهٔ سانتریفوژ ریخته شد و مدت ۲۰ دقیقه در۱۷۶۰۰ گرم در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفوژ شد. رونشین (سوپرناتانت) به‌عنوان عصارهٔ پروتئینی برگ به‌منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های محلول و بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز استفاده شد (Hung & Kao, 2003). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول واکنش در حجم نهایی۳ میلی‌لیتر برای پراکسیداز شامل ۲/۷۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار ۷ =pH۱۰۰میکرولیتر گایاکول ۰/۶ مولار،۱۰۰میکرولیتر پراکسیدهیدروژن، ۱/۲مولار و ۱۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. تغییر جذب محلول واکنش در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر پایهٔ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Chance & Maehly, 1955). و برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: محلول واکنش در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر برای پلی فنل‌اکسیداز شامل ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH=۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۰/۳ مولار، ۱۰۰میکرولیتر عصارهٔ

آنزیمی است. تغییر جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول‌موج۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر پایهٔ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Kar & Mishra, 1976).

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول با روش Bradford (1976) انجام شد. برای اندازه‌گیری غلظت کادمیوم در گیاه میزان ۱ گرم پودر مادهٔ خشک گیاه را در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و پس از آن ۱۰ میلی‌لیتر اسیدنیتریک ۱:۱ به آن اضافه شد و به مدت پانزده دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس گرما داده شد. پس از سرد شدن دوباره ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱:۱ اضافه شد و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس گرما داده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و نیز ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک غلیظ به آن اضافه شد و بدون جوشیدن گرما داده شد. پس از سرد شدن عصاره را با کاغذ صافی واتمن صاف کرده و با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Soon & Abboud, 1993). داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 تجزیه و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیهٔ واریانس نشان داد، تنش فلز سنگین کادمیوم در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد به‌طور معنی‌داری، شمار برگ، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه، میزان کاروتنوئیدها، میزان کربوهیدرات‌ها، پرولین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، محتوای سبزینه‌های a، سبزینه‌های کل و میزان کادمیوم ریشه و اندام‌های هوایی را تحت تأثیر قرار دادند، تأثیر سیلسیم نیز در ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، محتوای سبزینه‌های a، سبزینه‌های کل، کاروتنوئیدها، کربوهیدرات‌ها و میزان کادمیوم ریشه و اندام‌های هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل آن‌ها برای ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن خشک اندام‌های هوایی، میزان کربوهیدرات‌ها، پرولین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، محتوای سبزینه‌های a، سبزینه‌های b، سبزینه‌های کل و میزان کادمیوم ریشه و اندام‌های هوایی معنی‌دار شد (جداول ۲).

شاخص‌های ریخت‌شناختی

مقایسهٔ میانگین تأثیر کادمیوم بر شمار برگ، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه نشان داد، با افزایش غلظت کادمیوم میزان این شاخص‌ها کاهش پیدا کرد (جدول ۳). همچنین کاربرد سیلسیم باعث افزایش رطوبت نسبی و وزن تر اندام‌های هوایی شد (جدول ۴). بیشترین ارتفاع بوته، وزن خشک اندام‌های هوایی، سطح برگ به ترتیب در تیمار ۱ میلی مولار سیلسیم و بدون آلودگی کادمیوم به دست آمد (جدول۵).

جدول۲. تجزیهٔ واریانس تأثیر سیلسیم و تنش کادمیوم بر شاخص‌های ریخت‌شناختی فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه نعناع

Table 2. Analysis of variance of Silicon foliar spraying and cadmium stress on Morphological, physiological and biochemical indexes of spearmint

S.O.V.	df	Mean Squares							
		Plant height	Leaf number	Leaf area	Plant fresh weight	Plant dry weight	Sem dry weigh	Root dry weight	Relative water contents
Cadmium stress	3	601.04**	132690.58**	71644.05ns	8548.11**	241.35**	60.63**	5103.2**	0.009ns
Silicon	1	142.25**	2964.5ns	28590.38ns	2756.53**	266.11**	24.67**	139.36ns	0.022*
Silicon×cadmium	3	76.25**	8167.91ns	340036.76**	812.36ns	53.451**	8.17**	94.44ns	0.001ns
Error	24	10.14	4032.31	69005.15	330.46	9.98	0.52	96.92	0.0039
CV (%)		12.47	20.52	19.35	20.05	17.98	15.8	21.02	1.37

*، ** و ns: معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

*, **, ns: Significantly differences at 5 and % of probability levels, and non-significantly differnec, respectively.

ادامه جدول۲. تجزیهٔ واریانس تأثیر سیلسیم و تنش کادمیوم بر شاخص‌های ریخت‌شناختی فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه نعناع

Continued table 2. Analysis of variance of Silicon foliar spraying and cadmium stress on Morphological, physiological and biochemical indexes of spearmint

SOV	df	Mean Squares									
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid	Carbohydrate	Proline	Enzyme peroxidase	Enzyme Polyphenol oxidas	Cd content in stems and leaves	Cd content in root
Cadmium stress	3	11.19*	3.1ns	8.45*	56435.12**	0.008**	411995.39**	24.35**	1.49	0.18**	46.89**
Silicon	1	46.59**	16.81ns	19.39**	40246.66**	0.013**	8099.46ns	1.37 ns	0.02 ns	0.05*	1.54**
Silicon×cadmium	3	10.14*	3.05*	5.86*	22583.46ns	0.014**	91207.74**	0.49*	2.44**	0.03*	1.11**
Error	24	3.62	2.37	2.68	9211.38	0.0007	5743.41	0.51	0.22	0.22	0.15
CV (%)		29.35	12.65	21.51	21.14	21.02	8.22	14.20	25.33	29.45	13.5

*، ** و ns: معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

*, **, ns: Significantly differences at 5 and % of probability levels, and non-significantly differnec, respectively.

رنگیزه‌های نورساختی

سبزینه‌های a

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل تنش کادمیوم و محلول‌پاشی سیلسیم بر این شاخص نشان داد، بیشترین میزان سبزینه‌های a در تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم و غلظت ۰ کادمیوم (۹/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. کمترین آن (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز در تیمار شاهد و غلظت ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم مشاهده شد که با تیمار شاهد سیلسیم و غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و همچنین تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم با غلظت‌های ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم اختلاف معنی‌دار نشان نداد.

سبزینه‌های b

بیشترین میزان سبزینه‌های b (۳/۲۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش‌یافته در شرایط بدون تنش کادمیوم (شاهد) که با سیلسیم محلول‌پاشی شده بودند به دست آمد که با تیمار۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و تغذیه با سیلسیم اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین آن (۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح چهارم تنش (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بدون محلول‌پاشی سیلسیم مشاهده شد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد.

سبزینه‌های کل

بیشترین میزان سبزینه‌های کل (۱۲/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان محلول‌پاشی شده با سیلسیم و در غلظت شاهد کادمیوم مشاهده شد. کمترین آن نیز (۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در غلظت۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم) و بدون تیمار سیلسیم به دست آمد (جدول۶).

میزان کربوهیدرات‌ها

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل گویای آن بود که بیشترین میزان کربوهیدرات‌ها (۰/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و غلظت ۱ میلی‌مولار سیلسیم به دست آمد، کمترین میزان کربوهیدرات‌ها (۰/۰۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در غلظت ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و بدون سیلسیم به دست آمد (جدول۶).

میزان پرولین

بیشترین میزان پرولین در (۱۲۲۳/۰۱ میکروگرم بر گرم وزن تازه) غلظت ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و تغذیه با سیلسیم به دست آمد و کمترین آن (۶۸۸/۷۳ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار ۱ میلی مولار سیلسیم و بدون آلودگی با کادمیوم به دست آمد (جدول۶).

فعالیت‌های آنزیمی

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل تنش کادمیوم و سیلسیم بر این شاخص نشان داد، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۸۸/۵۷ میکرومول بر دقیقه بر

میلی‌گرم پروتئین) در تیمار بدون کاربرد کادمیوم و تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم بود. کمترین آن (۴۵/۲۵ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد سیلسیم و ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم به دست آمد در رابطه با فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز که بالاترین میزان این آنزیم (۰/۱۸ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم و غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم به دست آمد و کمترین میزان آن (۰/۰۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) نیز در غلظت ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و بدون کاربرد سیلسیم به دست آمد (جدول۶).

غلظت کادمیوم در اندام‌های هوایی و ریشهٔ گیاه

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل عامل‌ها نشان داد، بیشترین میزان کادمیوم در اندام‌های هوایی (۰/۶۵) میلی‌گرم بر کیلوگرم در غلظت ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم و بدون محلول‌پاشی سیلسیم مشاهده شد که با سطح ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) همین تیمار و غلظت ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم در تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین میزان آن (۰/۲) میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز برای تیمار شاهد سیلسیم و بدون آلودگی به دست آمد که با سطح ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) همین تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۶).

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل کادمیوم و سیلسیم بر میزان تجمع کادمیوم در ریشه نشان داد، بیشترین میزان کادمیوم در ریشه (۷/۱۴) میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد سیلسیم و۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) کادمیوم به دست آمد و کمترین آن (۰/۱۸) میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد سیلسیم و شاهد کادمیوم به دست آمد که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱ میلی‌مولار سیلسیم و شاهد کادمیوم نداشت (جدول ۶).

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین تأثیر تنش کادمیوم بر شاخص‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژی گیاه نعناع

Table 3. Mean comparison effects of cadmium stress for physiological and Morphological indexes in spearmint

Cd concentration (ppm)	Leaf number	Plant fresh weight (gr)	Root dry weight (gr)	Carotenoids (mg.g)
0	466.5[a]	123.75[a]	36.06[a]	577.45[a]
50	293.38[b]	94.25[b]	80.54[b]	534.51[b]
100	325[b]	99[c]	49.45[c]	461.38[c]
250	152.63[c]	45.62[d]	21.25[d]	339.02[d]

حرف‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر پایهٔ آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The same letters do not differ significantly ($p < 0.05$); LSD test.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین تأثیر سیلسیم بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه نعناع

Table 4. Mean comparison effects of cadmium stress physiology and biochemical indexes in spearmint

Silicon (Si)	Plant fresh weight (gr)	Relativewater contents (%)	Carotenoids (mg.g)
0	81.37[b]	33.82[b]	377.13[b]
1 mM	99.93[a]	34.71[a]	579.05[a]

حرف‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر پایهٔ آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The same letter does not differ significantly ($p < 0.05$); LSD test.

جدول ۵. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل سیلسیم و تنش کادمیوم بر شاخص‌های ریخت‌شناختی گیاه نعناع

Table 5. Mean comparison of interaction effect of Silicon foliar spraying and cadmium stress on Morphological indexes in spearmint

Silicon (Si)	Cd (mg/kg)	Plant height (cm)	Plant dry weight (gr)	Leaf area (mm^2)
0	0	28.66[b]	19.97[b]	1352.2[ab]
	50	26.58[bc]	16.38[bc]	1200.1[b]
	100	18.75[c]	12.59[c]	1030.5[c]
	250	9.08[d]	8.16[d]	860[d]
1mM	0	39.74[a]	28.47[a]	1709.9[a]
	50	37.20[a]	26.76[a]	1625.3[a]
	100	29.08[b]	22.28[ab]	1358.5[ab]
	250	15.16[d]	18.89[b]	1150.7[b]

حرف‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر پایهٔ آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The same letter does not differ significantly in each column ($P<0.05$); LSD test.

جدول۶. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی سیلسیم و تنش کادمیوم بر شاخص‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه نعناع

Table 6. Mean comparison interaction effects of Silicon foliar spraying and cadmium stress on physiological and biochemical indexes in spearmint

Silicon (Si)	Cd (mg/kg)	Chlorophyll a (mg.g)	Chlorophyll b (mg.g)	Total chlorophyll (mg.g)	Carbohydrate (mg.g)	Enzyme peroxidase (μ mol $d^{-1}mg^{-1}$ protein)	Enzyme polyphenoloxid (μ mol $d^{-1}mg^{-1}$ protein)	Proline (Mg.g)	Cd content in stems and leaves (mg/kg)	Cd content in root (mg/kg)
0	0	7.42 bc	2.68 b	10.1 b	0.25 a	46.25 b	0.167 a	736. 67 c	0.2 b	0.18 f
	50	5.71 cd	2.28 bc	7.99 b	0.016 d	45. 25 b	0.02 c	1218.39 a	0.27 b	1.29 e
	100	2.85 ef	1.67 c	3. 52 c	0.17 c	73. 8 a	0.1 b	795.05 bc	0.53 a	4.09 c
	250	1.35 f	0.85 de	2 .2 d	0.2 bc	75. 49 a	0.15 a	782.16 b	0.65 a	7.14 a
1mM	0	9.02 a	3.28 a	12.3 a	0. 25 a	88. 57 a	0.16 a	688.73 c	0.23 b	0.44 f
	50	7.63 b	3.06 ab	10.42 a	0. 24 ab	76. 86 a	0.16 a	1135.23 a	0.27 b	1.45 e
	100	5.44 cde	2.72 c	8.16 d	0. 27 a	71. 64 ab	0.18 a	702.58 c	0.22 b	2.58 d
	250	2. 66 ef	1. 59 c	4. 25 c	0. 15 c	70. 36 b	0. 09 b	1223.01 a	0.56 a	6. 2 b

حرف‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر پایهٔ آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The same letter does not differ significantly in each column (P<0.05); LSD test.

بحث

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، با افزایش سطوح کادمیوم شاخص‌های رشد و فیزیولوژی گیاه نعناع کاهش زیادی یافت. کادمیوم با اختلال در سوخت‌وساز نیتروژن و از راه مهار فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلوتامین سنتتاز، گلوتامات سنتتاز، نیترات ردوکتاز، و فرآیند احیای نیترات سبب کاهش تولید پروتئین‌ها شده و رشد را متوقف می‌کند. افزون بر آن کادمیوم به غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست‌ها آسیب می‌زند و ظرفیت نورساختی را به‌شدت کاهش داده و رشد گیاه را متوقف می‌کند. همچنین با مهار فعالیت آنزیم‌های چرخهٔ کالوین از جمله روبیسکو، و زنجیرهٔ انتقال الکترون و آسیب به یاخته‌های روزنه‌ای، نورساخت و رشد را کاهش می‌دهد. کادمیوم سبب اختلال در بیان ژن‌های CDK-A و Cyclin B1 می‌شود. این ژن‌ها به‌عنوان ژن‌های دخیل در چرخهٔ یاخته‌ای موجب رشد در نقاط مریستمی می‌شوند. از این‌رو کاهش یا افزایش در بیان این ژن‌ها می‌تواند منجر به تغییر در میزان رشد شود (Robert & Joanna, 2003). حضور کادمیوم در محیط رشد گیاه باعث کاهش سرعت تبخیر و تعرق و جذب یون به‌وسیلهٔ گیاه شده و با اختلال در جذب آب و کاهش غلظت دیگر یون‌ها بازدارندهٔ انجام فعالیت‌های طبیعی ریشه می‌شود این کاهش جذب عنصرهای غذایی و آب باعث کاهش در رشد گیاه و وزن اندام‌های هوایی می‌شود (Veselov *et al.*, 2003). نتایج یک آزمایش نشان داد، کاهش وزن تر اندام‌های هوایی گیاه لوبیا در شرایط آلودگی خاک به کادمیوم می‌تواند ناشی از مختل شدن سازوکارهای فیزیولوژیکی دخیل در رشد گیاه و تأثیر منفی بر میزان زیست‌تودهٔ گیاه باشد (Bhardwaj *et al.*, 2007). کاهش در شمار برگ متناسب افزایش میزان کادمیوم توسط دیگر محققان نیز گزارش شده است (Shanker *et al.*, 2005; Raziuddin *et al.*, 2011; Ali khan, 2012; Siddhu *et al.*, 2008). Millan *et al.* (2009) در گیاه گوجه‌فرنگی کاهش وزن ریشه و اندام‌های هوایی را در نتیجهٔ تیمار با کادمیوم در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، که با نتایج بررسی Gouia *et al.* (2001) روی گیاه لوبیا نیز همسان است.

در این پژوهش تیمار سیلسیم تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی گیاه نعناع در شرایط تنش کادمیوم داشت. عنصر سیلیسیم در بافت‌های گیاهی سیلسیم به‌صورت سیلیکا در آپوپلاست دیوارهٔ یاخته‌ای رسوب کرده و باعث استحکام بافت و افزایش طول میان‌گره‌ها و ارتفاع گیاه می‌شود. سیلیسیم در دیواره‌های یاختهٔ آوند چوبی نیز قرار گرفته و از

فروریختن آوندها در شرایط تعرق زیاد جلوگیری می‌کند (Marchner, 1995). در حضور سیلیسیم از طریق بهبود توانایی مکانیکی ساقه و برگ‌ها باعث ایستادگی ساقه و گسترش برگ‌ها در برابر نور، افزایش جذب نور ظرفیت نورساختی و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود (Samuels *et al.*, 2009). افزون بر این، حضور سیلسیم در لایهٔ درونی (آندودرم) ریشه ممکن است جذب آپوپلاستی آب و برخی یون‌ها را کاهش دهد (Kidd *et al.*, 2001). سیلسیم در دیوارهٔ یاخته‌ای برگ‌های برنج به‌عنوان حلقه‌ای بین لیگنین‌ها و کربوهیدرات‌ها عمل می‌کند (Inanaga & Okasaka, 1995). در نتیجه، کاربرد سیلسیم منجر به افزایش کمپلکس لیگنین‌ها- سیلسیم- کربوهیدرات‌ها در دیوارهٔ یاخته‌های روپوست برنج می‌شود. کمپلکس لیگنین‌ها- سیلسیم- کربوهیدرات‌ها در دیوارهٔ یاخته‌ای جایگاه‌های جذب فراوانی برای فلزهای سنگین ایجاد می‌کند (DaCunha & Do Nascimento, 2009). سازوکارهای اصلی که سیلسیسم تنش فلزها را در گیاهان کاهش می‌دهد شامل ایجاد کمپلکس با فلزها، مهار انتقال فلزها از ریشه به اندام‌های هوایی، حجره‌بندی یون‌های فلزی درون گیاه و تحریک سامانهٔ پاداکسنده در گیاهان است (Neumann & Zur Nieden, 2001). Dufey *et al.* (2013) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، سیلسیم تأثیر سمیت زیادی آهن را در برگ گیاه برنج کاهش داده است.

یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیوم در ریشهٔ گیاهان مورد تحقیق ممکن است تجمع آن‌ها در واکوئل‌ها نیز باشد. تجمع این عنصرها باعث افزایش غلظت کادمیوم در واکوئل‌های یاخته‌ای بازدارندهٔ انتقال آن‌ها به اندام‌های هوایی شده و به همین دلیل میزان این عنصر در ریشه بیشتر از اندام‌های هوایی است (Ramos *et al.*, 2002). Sharma *et al.* (2008) در نتایج بررسی‌های خود اعلام کردند، کادمیوم در برگ هویج بیش از ریشه تجمع می‌یابد.

انباشته شدن کادمیوم در بسیاری از گیاهان باعث کمبود آهن، منیزیم و کلسیم شده و سبب توقف ساخت سبزینه‌ها، کاهش نورساخت و رشد شده و در نتیجه باعث کاهش شمار برگ، وزن خشک ریشه و سطح برگ، ارتفاع بوته و میزان زیست‌تودهٔ گیاهی می‌شود (Chaffei *et al.*, 2003). در رویارویی با تنش فلزهای سنگین سیلیسیم در لایهٔ رسوب کرده و سبب کاهش انتقال کادمیم از راه آپوپلاست یا فضای آزاد بین یاخته‌ای می‌شود و در نتیجه از کاهش ارتفاع به‌وسیلهٔ فلزهای سنگین جلوگیری به عمل می‌آورد. تأثیر سودمند سیلسیم در گیاه به تغییر ساختار بدنی (آناتومیکی) با رسوب سیلسیم در دیوارهٔ یاخته‌ای نسبت داده شده است (Ma & Takahashi, 2002). سیلیسیم با افزایش کارایی مصرف آب و بهبود محتوای رطوبت نسبی برگ در شرایط شوری، باعث افزایش فشار آماس (تورژسانس) و افزایش اندازه و سطح برگ و در نتیجه افزایش نورساخت می‌شود (Kaya *et al.*, 2006). یافته‌های این پژوهش با نتایج آزمایش Gong *et al.* (2005) که افزایش در وزن تر و خشک گیاه جو، با کاربرد حضور سیلسیم وضعیت آبی گیاه را بهبود بخشید و باعث افزایش وزن خشک در گیاه گندم شد همخوانی دارد همچنین با افزودن سیلسیم به محلول غذایی در محیط آبکشت صفات وزن خشک ریشه و شاخساره، طول ریشه و ارتفاع خیار نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت.

یکی از راه‌های رویارویی با اثرگذاری‌های زیانبار فلزهای سنگین در گیاهان، افزایش میزان پرولین است. تجمع پرولین در شرایط تنش ممکن است به دلیل کاهش اکسایش (اکسیداسیون) پرولین یا تحریک ساخت آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز نخستین نقش محافظت‌کنندگی آنزیم‌های سیتوزولی (حفاظت از آنزیم کربوکسیلاز) در ساختار یاخته ای را بر عهده دارد لذا پرولین در شرایط تنش، در یاخته انباشت می‌شود (Akbari Mogadam, 2012). پرولین باعث پایداری پروتئین، تنظیم فشار اسمزی و محافظت از ساختارهای یاخته‌ای در شرایط تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش فلزهای سنگین می‌شود که با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی از جمله سوپراکسید دیسموتاز از آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌کاهد (Veselov *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد سیلسیم با افزایش میزان پرولین این وظایف را شدت می‌بخشید (Omidbeigi, 2005). یافته‌های این پژوهش با یافته‌های Al-aghabary *et al.* (2004) بر گوجه‌فرنگی همخوانی دارد.

کاهش میزان رنگیزه‌های نورساختی در گیاهان توسط کادمیوم می‌تواند به دلیل آسیب‌های اکسایشی، تأثیر بازدارندگی بر مراحل مختلف ساخت سبزینه از راه بازدارندگی و رقابت در جذب عنصرهای غذایی ضروری مانند آهن، منگنز و منیزیم باشد (Prasad *et al.*, 2011). کادمیوم با جایگزین شدن در فرایند جذب ریشه‌ای از طریق پروتئین‌های ناقل موجود در غشای یاخته‌ای بازدارندهٔ ساخت مولکول سبزینه می‌شود (Cocker *et al.*, 1998). فلزهای سنگین با بازدارندگی زیست‌ساخت (بیوسنتز) پروتئین‌های کمپلکس LHCII تشکیل این کمپلکس را مختل می‌کند (Kaldis *et al.*, 1962). کاروتنوئیدها نقش حفاظتی در برابر تنش اکسایشی داشته و باعث کاهش تأثیر سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Sanitata di toppi & Gabbriella, 1999). همچنین کاهش رنگدانه‌های نورساختی می‌تواند از راه توقف فعالیت آنزیم‌های درگیر در زیست‌ساخت سبزینه‌ها مانند آمینولوولنیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلد ردوکتاز باشد (Jianpeng *et al.*, 2010). کاربرد سیلسیم باعث افزایش در فعالیت‌های نورساختی در شرایط تنش می‌شود که موازی با افزایش فعالیت آنزیم‌های نورساختی ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز و گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز است سیلسیم با قرار گرفتن در آپوپلاسم دیواره‌های خارجی یاخته‌های روپوستی، باعث افزایش در محتوای سبزینه‌ها و کاهش در میزان تعرق روزنه‌ای می‌شود. از جمله دلایل افزایش میزان سبزینه‌ها در تیمار سیلسیم می‌توان به تأثیر سیلسیم در افزایش کارایی نظام نوری ۲ اشاره کرد (Al-Aghabary, 2004). تأثیر مثبت کاربرد سیلسیم در فراسنجه (پارامتر)های مربوط به نورساخت تحت تنش فلزهای سنگین در پنبه (Faroog *et al.*, 2013)، خیار (Feng *et al.*, 2010) و جو (Ali *et al.*, 2013) مشاهده شد. در همین راستا افزایش در میزان سبزینه‌ها در این بررسی با پژوهش‌های صورت گرفته در گیاه گندم همخوانی دارد (Gong *et al.*, 2005).

فلزهای سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی، انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند (Noorani Azad & Kafilzadeh, 2011). با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع کادمیوم در یاخته‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. افزون بر این کربوهیدرات‌های محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیرهٔ کربوهیدراتی خود را برای حفظ سوخت‌وساز پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (Vassilev, 2003). سیلسیم بر سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها و پخش مواد نورساختی در گیاهان در حال رشد تأثیر قابل‌توجهی گذاشته و تا حدودی باعث افزایش آن می‌شود. احتمال دارد این موضوع به علت کاهش انتقال آب به برگ‌ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ و افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی چند مسیر سوخت‌وسازی از جمله مسیر زیست‌ساخت کربوهیدرات‌ها باشد (Ma & Yamaji, 2006).

Miao *et al.* (2010) در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، سیلیکون با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده و کاهش میزان پراکسید هیدروژن سبب بهبود برخی از آثار ناشی از کمبود پتاسیم در گیاه سویا می‌شود. حضور سیلیکون در شرایط سمیت آهن نیز منجر به افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و آنزیم پراکسیداز گیاه شد که با یافته‌های این پژوهش همخوانی دارد (Abdulzade & Kiyani, 2012).

REFERENCES

1. Abdolzade, A. & Kiyani, Z. (2012). Silicon role in reducing the deficit and iron toxicity in rice plants in a hydroponic system. *Journal of Science and Technology of greenhouse cultures*, 3, 12. (in Farsi)
2. Adriano, D. C. (2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments*; Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer-Verlag. New York.
3. Akbari mogadam, R. (2012). *Dry matter partitioning and wheat varieties morphological reaction under drought conditions at different growth stages*. Ph.D. thesis. Zabul Agriculture University. (in Farsi)
4. Al-Aghabary, K., Zhu, Z. & Shi, Q. (2004). Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 2101-2115.

5. Ali khan, M. A. (2012). Effect of cadmium on growth and metabolism of phaseolus mungo. *Journal of Environmental Biology*, 33, 173-179.
6. Ali, S., Farooq, M. A., Yasmeen, T., Hussain, S., Arif, M. S. & Abbas, F. (2013). The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra structure under chromium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 66-72.
7. Aligadr, M., Hazrati, S. & ganbari, M. (2007). Measuring the concentration of heavy metals in drinking water sources in Ardabil. Environmental Health seminar. (in Farsi)
8. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
9. Azevedo, R. & Hadwin, A. F. (2005). Scaffolding self-regulated learning and metacognition: Implications for the design of computer-based scaffolds. *Instructional Science*, 33, 367–379.
10. Bahrampour, T., Fallah Nosrat Abad, A. R., Shiri, M. R. & Sarvi Moghanlo, V. (2013). Investigating heavy elements status (Cd, Ni and Pb) in soils of Moghan. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, 3, 243-249. (in Farsi)
11. Balestrasse, K. B., Gardey, L., Gallego, S. M. & Tomaro, M. L. (2001). Response of tioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 497-504.
12. Bates, L. S., Waldern, R. P. & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207.
13. Behtash, F., Tabatabaii, S. J., Malakouty, M. J., Sorour-Aldin, M. H. & Ustan, Sh. (2011). Effect of Cadmium and Silicon on Growth and Some Physiological Aspects of Red Beet. *Sustainable Agriculture and Production Sciences*, 20(2), 54-67.
14. Bhardwaj, R., Arora, N., Sharma, P. & Arora, H. K. (2007). Effects of homobrassinolid on seedling growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities under nickel stress in seedlings of *Zea mays*. *Asian Journal of plant science*. 6, 765- 772.
15. Bohnert, H. J., Nelson, D. E. & Jensen, R. G. (1999). Adaptations to environmetal stresses. *Plant Cell* 7, 1099-1111.
16. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemistry*, 72, 248-254.
17. Chaffei, C., Gouia, H. & Ghorbe, l. M. (2003). Nitrogen Metabolism in Tomato Plants Under Cadmium. Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 1617-1634.
18. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods of Enzymology*, 11, 764-755.
19. Chen, H. M., Zheng, C. R., Tu, C. & Slen, Z. G. (2000). Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 41, 229-234.
20. Cheng, S. F. & Huang, C. Y. (2006). Influence of cadmium on growth of root vegetables and accumulation of cadmium in the edible root. *International Journal of Applied Science and Engineering Research*, 43, 243-252.
21. Cocker, K. M., Evans, D. E. & Hodson, M. J. (1998). The amelioration of aluminium toxicity by silicon in higher plants: solution chemistry or an in planta mechanism. *Plant Physiology*, 104, 608-614.
22. Da Cunha, K. P. V. & Do Nascimento, C.W.A. (2009). Silicon effects on metal tolerance and structural changes in maize *Zea mays* L. grown on cadmium and zinc enriched soil. *Water and Air and Soil Pollution*, 197, 323-330.
23. Das, P., Samantaray, S. & Rout, G. R. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants a review. *Environmental Pollution*. 98, 29-36.
24. Datnoff, L. E., Snyder, G. H. & Korndorfer, G. H. (2001). *Silicon in Agriculture*. Elsevier Science Amesterdam. The Neatherlands, p, 403.
25. Dudka, S., M. Piotrowska, H. Terelak. 1996. Transfer of cadmium, lead and zinc from industrially contaminated soil to crop plants: A field study. *Environmental Pollution*. 94, 181-188.
26. Duffy, F. H., Shankardass, A., McAnulty, G. B. & Als, H. (2013). The relationship of Asperger's syndrome to autism: a preliminary EEG coherence study. *BMC medicine*, 11(1), 175.
27. Epstein, E. (2009). Silicon: its manifold roles in plants. *Annuals of applied biology*, 155, 155- 160.
28. Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Ishaque, W., Mahmood, K. & Iqbal, Z. (2013). Alleviation of cadmiumtoxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 96, 242-249.
29. Feng, J., Shi, Q., Wang, X., Wei, M., Yang, F. & Xu, H. (2010). Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in Cucumis sativus L. *Scientia Horticulturae*, 123(4), 521-530.
30. Gao, X., Zou, C., Wang, L. & Zhang, F. (2006). Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 1637-1647.

31. Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Suomin, W. & Zhang, C. H. (2005). Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 169, 313-321.
32. Gouia, H., Ghorbal, M. H. & Meyer, C. (2001). Effect of cadmium on activity of nitrat reductase and on other enzymes of nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology*, 38,629-638.
33. Hsu, Y. T. & Kao, C. H. (2007). Cadmium-induced oxidative damage in rice leaves is reduced by polyamines. *Plant and Soil*, 291, 27-37.
34. Hung, K. T. & Kao, C. H. (2003). Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by abscisic acid. *Journal of. Plant Physiology*, 160, 871-879.
35. Inanaga, S. & Okasaka, A. (1995). Calcium and silicon binding compounds in cell walls of rice shoots. *Soil Science and Plant Nutrition*, 41(1), 103-110.
36. Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (Medicago sativa L.) plants. *Physiolica Plantarum*, 84, 55-60.
37. Jafarnejadi, A. R., Sayyad, G. A., Homaee, M. & Davamei, A. H. (2013). Spatial variability of soil total and DTPAextractable cadmium caused by long-term application of phosphate fertilizers, crop rotation and soil characteristics. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(5), 4087-4096.
38. Jianpeng, F., Qinghua, S., Xiufeng, W. & Min, W. (2010). Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium toxicity *Cucumis satvius* L.. *Scientia Horticulturae*, 123, 521-530.
39. Kabata-Pendias, A. (2001). *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL. Pp,413.
40. Kafi, M., Borzoie, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masomi, A. & Nabati, G. (2009). *Physiology of Environmental Stress on Plant*. Jahad Mashhad University, Mashhad. (in Farsi)
41. Kaldis, A., Tziveleka, L., Hegedus, A., Kissimon, J., Prombonal, A., Horvath, G., Katznelson, H., Peterson, E. A. & Rovatt, J. W. (1962). Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. *Canadian Journal of Botany*, 40, 1181-1186.
42. Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
43. Kaya, C., Tuna, L. & Higgs, D. (2006). Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water-stress condition. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 1469-1480.
44. Keller, A. (2000). *Assessment of uncertainty in modeling heavy metal balanes of regional agroecosystem*. Ph.D. Thesis. Naturwissenschaften ETH Zürich, Nr. 13944.
45. Kidd, P. S., Llugany, M., Gunse, B. & Barcelo, J. (2001). The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize *Zea mays L. Journal of Experimental Botany*, 52(359), 1339-5.
46. Lasat, M.M. (2002). Phytoextraction of toxic metals-A review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality*, 31, 109-120.
47. Lefèvre, I., Marchal, G., Meerts, P., Corréal, E. & Lutts, S. (2009). Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species Atriplex halimus L. *Environmental and Experimental Botany*, 65(1), 142-152.
48. Liang, Y. C., Wong, J. W. C. & Long, W. (2005). Silicon-mediated enhacement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere*, 58, 475-483.
49. Loeppert, R. H. & Donald, L. S. (1996). *Carbonate and gypsum*. Publications from USDA-ARS/UNL Faculty, P, 437-575.
50. Ma, J. F. & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11, 392-397.
51. Ma, J. F. &Takahashi, E. (2002*). Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan*. Elsevier Science. P. 275.
52. Marchner, H. (1995*). Mineral Nutrition of Higher Plants.* Academic Press, New York, p, 313-323.
53. Miao, B. H., Han, X. G. & Zhang, W. H. (2010). The ameliorative effect of silicon on soybean seedlings grown in potassium-deficient medium. *Annual Botany*, 105, 967-973.
54. Millan, A., Sagardoy, R., Solanas, M., Abadia, A. & Abadia. J. (2009). Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentm*) plant grown hydroponics. *Enviromental and Expermental Botany*, 65, 376-385.
55. Nelson, D. W. & Sommers, L. E. (1982). Total carbon, organic carbon, and organic matter, P, 539-579. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of Soil Analysis*. Part 2. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
56. Neumann, D. & Zur Nieden, U. (2001). Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry*, 56, 685-692.
57. Noha, H. A., Reda, R. Sh. & Hasan, A. (2013). Assessment of Heavy Metals Immobilization in Artificially Contaminated Soils Using Some Local Amendments. *Open Journal of Metal*, 3, 68-76.

58. Noorani Azad, H. & Kafilzadeh, F. (2011). The effect of cadmium toxicity on growth, Nutrient deficiency and physiological disease of 1970 lowland rice in Ceylon. *Soil Science and Plant Nutrition*, 16, 11-23.
59. Omid Bigi, R. (2000). *Apporaches production and processing of medicinal plant.* Mashhad Publications, Astan Quds Razavi. P. 397. (in Farsi)
60. Pandey, N. & Sharma, C. P. (2002). Effects of heavy metals Co^{2+}, Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. *Plant Science*, 163, 753-758.
61. Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A. & Pandey, A. (2011). Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil *Ocimum basilicum* L. *Biology and Fertility of Soils*, 47(8), 853-861.
62. Rahimi, T. & Ronaghi, A. (2012). Effect of different zinc sources on concentration of cadmium and some micronutrients in spinach grown on a calcareous soil. *Journal of Greenhouse Culture Science and Technology*, 3(10), 101-112. (in Farsi)
63. Ramos, I., Esteban, E., Lucena, J. J. & Garate, A. (2002). Cadmium uptake and subcellular distributio in plants of *Lactuca sp*. Cd-Mn intraction. *Plant Science*, 162, 761-767.
64. Raziuddin, N., Farhatullah, G., Hassan, M., Akmal, S., Slim Shah, F., Mohhamad, M., Shafi, J., Bakht, W. & Zhou, G. (2011). *Pakistan Journal of Botany*, 43(1), 333-340.
65. Ritchie, S. W. & Nguyen, H. T. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30, 105-111.
66. Robert, S. & Joanna, D. (2003). Cadmium-Induced Changes in Growth and Cell Cycle Gene Expression in Suspension-Culture Cells of Soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 767-4872.
67. Samuels, A. L., Glass, A. D. M., Ehret, D. L. & Menzies, J. G. (1993). The effects of silicon supplementation on cucumber fruit: Changes in surface characteristics. *Annals of Botany*, 72, 433-440.
68. Sanita, L. & Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and experimental Botany*, 41, 105-130.
69. Sanitata di toppi, L. & Gabbriella, R. (1999). Response to Cd in higher plant- Review. *Enviromental and Exprimental Botany*, 45, 105-130.
70. Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. & Avudainayagam, S. (2005). Chomium toxicity in plants. *Environomental International*, 31,739-753.
71. Sharma, R. K., Agrawal, M. & Agrawal, S. B. (2008).Interactive effects of cadmium and zinc on carrots: growth and biomass accumulation. *Journal of Plant Nutrition*, 31, 19-34.
72. Siddhu, G., Shingh sirohi, D., Koshyap, K., alikhan, I. & Ali khan, M. A. (2008). Toxicity of cadmium on growth and yield of Solanum melongena. *Journal of Environmental Biology*, 29(6), 853-857.
73. Soon, Y. K. & Abboud, S. (1993). Cadmium, chromium, lead and nickel.pp.103-107. In: M.R. Carter (ed.). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis Publishers.
74. Sposito, G. (1989). *The Chemistry of Soils*. New York: Oxford University Press. *Soil*, 154, 103-109.
75. Tabande, L. (2015). *Introducing Different methods Contaminated Soils Correction*, Research and Education Center Agriculture and Natural Resources Fars. P, 2-4. (in Farsi)
76. Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. & Cakmak, I. (2006). Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements. Medicinal Biology*, 20, 181-189.
77. Vassilev, A. & Yordanov, I. (1997). Reductive analysis of factors limiting growth of with Active Yeast Extract or with Garlic Cloves Extract. *Research Journal of Agriculture*, 34, 293-302.
78. Veselov, D., Kuudoyarova, G., Syymonyan, M. &. Veselov, S. T. (2003). Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seadling. *Plant Physiology*, 117, 353-359.
79. Wang, L., Zhou, Q., Ding, L & Sun. Y. (2008). Effect of cadmium toxicity on nitrogen metabolismin leaves of *Solanum nigarum* L.. *Journal of Hazard Materials*, 154, 818-814.
80. Wang, L. G., Wang, Y. H., Chen, Q., Cao, W. D., Li, M. & Zhang, F. C. (2000). Silicon induced cadmium tolerance of rice seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 23, 1397-1406.
81. Zargari, A. (2004). *Medicinal Plants*. Tehran University Publication. Tehran. Vol.4. (in Farsi)
82. Zhang, G., Fukami, M. & Sekimoto, H. (2002). Influence of cadmium on mineral concentration and yield components in wheat genotypes differing in Cd tolerance at seedling stage. *Field Crops Research*, 77, 93-98.