Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Evaluation of phytochemical properties, photosynthetic pigments and antioxidants of faba bean (*Vicia faba* L.), garden pea (*Pisum sativum* L.) and potato (*Solanum tuberosum* L.) in monoculture and intercropping

Ramezan Sarparast[1], Faezeh Zaefarian[*2], Hematollah Pirdashti[3], Mojtaba Mahmoudi[4]

1. Ph.D. Student of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran and Scientific Member of Seed and Plant Improvement Research Dept., Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran. E-mail: ram_sarparast@yahoo.com
2. Corresponding Author, Dept. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: fa_zaefarian@yahoo.com
3. Dept. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: h.pirdashti@sanru.ac.ir
4. Research Assistant Professor, Soil and Water Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran. E-mail: m.mahmoudip@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 08.16.2021
Revised: 10.04.2021
Accepted: 10.30.2021

Keywords:
Antioxidants,
Cadmium,
Flavonoids,
Phenol,
Pigment

ABSTRACT

Background and Objectives: Soil pollution with heavy metals and its transfer to agricultural products is expanding as a global problem. Cadmium is one of the heavy metals that increase its concentration in the root environment of the plant causes metabolic disorders in the plant. Studies have shown that the use of intercropping systems while increasing diversity, increasing yield, improving resource efficiency, reducing weed damage, pests and diseases(such as Uromyces and Botrytis of faba bean), increasing the stability of the system follows. This study investigates the effect of different levels of cadmium on plant pigments as one of the effective factors in the process of photosynthesis, as well as the amounts of phenol and flavonoid compounds and antioxidant activity in legumes (faba beans and garden pea) and potatoes in monoculture and intercropping.

Materials and Methods: The pot experiment was carried out as a factorial based on a completely randomized design with 4 replications at Gaemshar Agricultural Research Station, Mazandaran province during two agronomic seasons 2018-2019. Treatments were included planting pattern at five levels of monoculture potato, faba bean, garden pea and Intercropping (potato+faba bean), (potato+ garden pea) and five cadmium concentrations of 0 (control), 5, 10, 20 and 30 milligrams of cadmium per kilogram of soil as cadmium nitrate was added to the soil. For this purpose, methanolic extract was prepared from the dried leaves of the studied plants. Total phenols and flavonoids were assayed by spectrophotometry and the antioxidant activity of the extracts was evaluated by free radical scavenging methods (DPPH). Statistical analysis was performed using SAS software and comparison of means was performed by Duncan's multiple range test at the level of one and five percent probability and graphs were drawn using SigmaPlot and Excel software.

Results: The results showed that different cadmium concentrations had a significant effect on the amount of photosynthetic pigments ($P \leq 0.01$). The reduction trend of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids was

plinomial. With the application of the highest level of cadmium (30 mg of cadmium in the soil), carotenoids, chlorophyll a and chlorophyll b were significantly reduced. In concentration of 30 mg of cadmium in soil, the amount of chlorophyll a in the faba bean reached 3.84 mg/kg soil. In other words, with increasing the concentration of cadmium in the soil, the amount of chlorophyll a decreased by 83.07%. The decrease in total chlorophyll due to cadmium may be due to the inhibitory effect on the activity of its molecules. Total chlorophyll of faba bean with increasing concentrations of cadmium (from 5 to 30 mg soil) was a significant decrease. The sensitive treatments to increasing cadmium concentration were faba bean (7.66 mg/kg soil), potatoes (9.19 mg/kg soil) and garden pea (9.28 mg/kg soil), respectively. Analysis of variance showed that the effect of cadmium on flavonoid content, phenol and antioxidant capacity was significant at the level of 1% probability. In this study, faba bean plant had the highest mean of phenol (0.1643 mg que/g DW) and intercropping culture (potato+ faba bean) had the highest flavonoids (0.00814 mg que/g DW) and antioxidant (56.03%) obtained in the treatment of 30 mg of cadmium per kg of soil.The highest amount of flavonoids among plants was (0.8008 mg quercetin per gram of dry weight) of faba bean plant. In general, with increasing cadmium concentration in all five treatments of the cultivation pattern, including (monoculture potato, faba bean and garden pea and a mixture of potato + faba bean and potato + garden pea) there is an increasing trend in the amount of phenol, flavonoids and antioxidant capacity.

Conclusion: The results of the present study indicate a significant difference between the different treatments in terms of the total amount of phenolic and flavonoid compounds that the existence of such diversity can indicate the role of plants and genetics in the production of these compounds. With increasing the concentration of cadmium, the amount of chlorophyll a and chlorophyll b pigments was significantly reduced. In general, from the findings of this study, it can be concluded that these plants, cadmium toxicity in all three plants led to the induction of phenolic compounds.

Cite this article: Sarparast, Ramezan, Zaefarian, Faezeh, Pirdashti, Hematollah, Mahmoudi, Mojtaba. 2022. Evaluation of phytochemical properties, photosynthetic pigments and antioxidants of faba bean (*Vicia faba* L.), garden pea (*Pisum sativum* L.) and potato (*Solanum tuberosum* L.) in monoculture and intercropping. *Journal of Plant Production Research*, 29 (3), 49-68.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2021.19328.2851
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتی‌اکسیدانی باقلا (*Vicia faba* L.)، نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) و سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت سمیت کادمیم در کشت خالص و مخلوط

رمضان سرپرست[۱]، فائزه زعفریان*[۲]، همت‌الله پیردشتی[۳]، مجتبی محمودی[۴]

۱. دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران و عضو هیأت علمی بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران. رایانامه: ram_sarparast@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: fa_zaefarian@yahoo.com

۳. گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: h.pirdashti@sanru.ac.ir

۴. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران. رایانامه: m.mahmoudip@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۸

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدانی،
حبوبات،
رنگیزه،
فنل،
کادمیم

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی خاک با فلزات سنگین و انتقال آن به محصولات کشاورزی به عنوان یک مشکل جهانی در حال گسترش می‌باشد. کادمیم یکی از فلزات سنگین است که افزایش غلظت آن در محیط ریشه گیاه سبب بروز اختلالات متابولیسمی در گیاه می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است به‌کارگیری نظام‌های کشت مخلوط ضمن بالا بردن تنوع، افزایش عملکرد، بهبود کارایی استفاده از منابع، کاهش خسارت علف‌های هرز، آفات و بیماری‌ها (مانند زنگ و لکه‌شکلاتی باقلا)، افزایش ثبات و پایداری نظام را به‌دنبال دارد. این پژوهش به بررسی اثر سطوح متفاوت کادمیم بر رنگدانه‌های گیاهی به‌عنوان یکی از عامل‌های مؤثر در فرایند فتوسنتز، هم‌چنین مقادیر ترکیبات فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حبوبات (باقلا و نخودفرنگی) و سیب‌زمینی به‌صورت کشت خالص و مخلوط می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا" تصادفی در پنج سطح کادمیم (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و پنج سطح کشت شامل تک‌کشتی باقلا، تک‌کشتی نخودفرنگی، تک‌کشتی سیب‌زمینی و کشت مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا (۱:۱) و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی (۱:۱) در۴ تکرار طی دو سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ در ایستگاه باغبانی قائم‌شهر مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور از برگ‌های خشک گیاهان مورد مطالعه عصاره متانولی تهیه شد. سنجش فنول و فلاونوئید کل به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش‌های احیاء رادیکال آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و

مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot و Excel رسم شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تأثیر معنی‌داری داشت (P≤۰/۰۱). کاهش کاروتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b به شکل پلینومیال بود. با کاربرد بالاترین سطح کادمیم (۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک) کاروتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b کاهش چشمگیری داشت. در غلظت ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک، مقدار کلروفیل a موجود در گیاه باقلا به ۳/۸۴ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. به‌عبارت دیگر، با افزایش غلظت کادمیم در خاک، مقدار کلروفیل a ۸۳/۰۷ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. کاهش کادمیم در میزان کلروفیل کل می‌تواند به‌علت اثر بازدارندگی روی فعالیت مولکول‌های آن باشد. کلرفیل کل گیاه باقلا با افزایش غلظت کادمیوم (از ۵ تا ۳۰ میلی‌گرم در خاک) دچار افت قابل‌توجهی شد. حساسیت تیمارها نسبت به افزایش غلظت کادمیوم به‌ترتیب باقلا (۷/۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، سیب‌زمینی (۹/۱۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و نخودفرنگی (۹/۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) بودند. تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر کادمیم بر میزان فلاونوئید، فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. در این مطالعه گیاه باقلا بیش‌ترین میانگین فنل (۰/۱۶۴۳ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) و کشت مخلوط (سیب‌زمینی+ باقلا) بیش‌ترین فلاونوئید (۰/۰۰۸۱۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و هم‌چنین آنتی‌اکسیدان (۵۶/۰۳ درصد) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار فلاونوئید را در بین گیاهان به مقدار (۰/۰۰۸۲۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) گیاه باقلا به خود اختصاص داد. در مجموع با افزایش سطوح کادمیم در هر پنج تیمار الگوی کشت شامل (تک‌کشتی سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) روند افزایشی در میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان وجود دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف (تک‌کشتی باقلا، نخودفرنگی، سیب‌زمینی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) ازنظر مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند بیانگر نقش گیاه و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. هم‌چنین با افزایش غلظت کادمیم به‌طور معنی‌داری از میزان رنگدانه‌های کلروفیل a و کلروفیل b کاسته شد. به‌طورکلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که این گیاهان مانند بیش‌تر گیاهان به تنش عناصر سنگین واکنش نشان داده‌اند و سمیت با کادمیم در هر سه گیاه (باقلا، نخودفرنگی، سیب‌زمینی) منجر به القاء ترکیبات فنلی شد.

استناد: سرپرست، رمضان، زعفریان، فائزه، پیردشتی، همت‌الله، محمودی، مجتبی (۱۴۰۱). بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتی‌اکسیدانی باقلا (*Vicia faba* L.)، نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) و سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت سمیت کادمیم در کشت خالص و مخلوط. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۲۹ (۳)، ۶۸-۴۹.
DOI: 10.22069/JOPP.2021.19328.2851

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

حبوبات به‌دلیل میزان پروتئین بالا (تقریباً دو برابر غلات) و ویژگی‌هایی هم‌چون توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه‌دهی عمیق و استفاده مؤثر از نزولات جوی سبب شده است که این گیاه نقش مهمی در ثبات تولید نظام‌های زراعی در کشاورزی پایدار ایفا نماید (۱). با توجه به محدودیت اراضی قابل کشت در استان‌های شمالی ایران که محصولات زراعی را در قطعات کوچک و خرد کشت می‌کنند، کشت مخلوط سیب‌زمینی و لگومینوز برای توسعه نظام‌های پایدار تولید غذا، به‌ویژه در نظام‌های کاشت بر مبنای کاهش مصرف نهاده‌های خارجی توسط برخی پژوهش‌گران توصیه شده است (۲). با توسعه نظام‌های تک‌کشتی، مشکلات خاصی مانند کاهش عملکرد گیاهان زراعی و هجوم آفات و بیماری‌ها در بخش کشاورزی پیش آمده است. در مقابل، نظام‌های کشت مبتنی بر کشاورزی پایدار مانند کشت مخلوط که نظام‌های با ویژگی‌های مانند تنوع زیاد گونه‌های گیاهی، چرخه تقریباً بسته عناصر غذایی، شیوع کم‌تر آفات، کنترل بهتر فرسایش خاک، عملکردی با ثبات و استفاده کارآمد و بهتر از منابع تولید قرار دارند (۳).

گیاهان طی چرخه زندگی خود معمولاً در معرض انواع وسیعی از تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند کـه از جمله آن‌ها می‌توان به تنش فلزات سنگین اشاره نمود. فلزات سنگین خطرناک‌ترین آلاینده‌ها هستند که در پوسته زمین و رسوبات وجود دارند (۴). کادمیم از سمی‌ترین فلزها در محیط زیست است که حلالیت و تحرک بسیار بالایی دارد (۵). کادمیم توسط گیاهان جذب و به‌راحتی وارد زنجیره غذایی شده (۶) و صدمات جبران‌ناپذیری را به محیط زیست وارد می‌سازد. با گسترش فعالیت‌های صنعتی، غلظت عناصر سنگین ازجمله کادمیم در آب و خاک افزایش یافته به‌طوری‌که غلظت این عنصر در برخی از اراضی زراعی به حد سمیت برای گیاهان زراعی رسیده است (۷). حضور کادمیم در خاک ممکن است به‌طور طبیعی و یا به‌خاطر فعالیت‌های انسانی مانند صنایع فلزی، کودهای آلوده، علف‌کش‌ها یا حشره‌کش‌ها و آبیاری با آب‌های زیرزمینی آلوده رخ دهد (۸). این عنصر می‌تواند با حرکت در فضای آزاد دیواره سلولی و یا انتقال در سراسر غشاء پلاسمایی سلول‌های ریشه از طریق سیتوپلاسم (مسیر سیمپلاستیک) وارد ریشه گیاهان شود (۹).

براساس برخی گزارش‌ها، متوسط کادمیم در برخی محصولات زراعی کشور ما، از مقادیری که توسط سازمان خواروبار کشاورزی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی (WHO) به‌عنوان سطح مجاز معرفی شده، بیش‌تر است (۱۰). سالیانه در حدود ۲۲۰۰۰ تن کادمیم به خاک‌های جهان اضافه می‌شود و اتحادیه اروپا حداکثر مجاز کادمیم در خاک‌های زراعی را یک تا سه میلی‌گرم در کیلوگرم خاک تعیین نموده است (۱۱). خاک‌های زراعی ایران نیز مانند سایر کشورهای جهان با درجات کم تا متوسط آلوده به کادمیم می‌باشند. بررسی تأثیر ویژگی‌های خاک بر کادمیم قابل‌جذب خاک در ایران نشان داده است که pH مؤثرترین عامل کنترل‌کننده حلالیت کادمیم در خاک است (۱۲). ویژگی‌های خاک، نقش مهمی در زیست‌فراهمی کادمیم در خاک دارند (۱۳). این ویژگی‌ها شامل غلظت و شکل فلز، pH، مواد آلی، مقدار رس، برهمکنش با دیگر فلزات و عملیات کوددهی می‌باشند (۱۴). اسدی و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که کودهای فسفری دارای مقادیر زیادی کادمیم هستند که باعث تجمع این فلز در خاک می‌شوند (۱۵). هم‌چنین، تناوب کشت محصولات مختلف، از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر افزایش میزان کادمیم قابل‌جذب در خاک است و هرچه میزان بقایای گیاهی بعد از برداشت گیاه در خاک بیش‌تر باشد اثر زیادتری بر میزان کادمیم قابل‌جذب گیاه دارد (۱۶). گیاهان نقش مهمی در ورود کادمیم به چرخه غذایی

انسان دارند. توانایی گیاهان مختلف در جذب کادمیم متفاوت است به‌طوری‌که منشأ ۷۵ درصد از کادمیم موجود در زنجیره غذایی غلات و سبزی‌ها می‌باشد (۱۷) و یکی از گیاهان متداول برای تجمع فلزات از جمله کادمیم، گیاه نخودفرنگی می‌باشد (۱۸). کافی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند، میزان مجاز کادمیم در برگ‌ها بین ۰/۰۵ تا ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و میزان سمی بودن در برگ‌ها ۳۰-۵ میلی‌گرم و میزان سمیت کادمیم در خاک سطحی ۸۰-۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک می‌باشد (۱۹). حدمجاز جذب کادمیم برای انسان ۰/۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز است و نیمه عمر زیستی کادمیم ۳۰ سال می‌باشد (۲۰). مانرو (۲۰۱۲) گزارش کرد "کادمیوم اضافی از فعالیت روبیسکو آنزیم کلیدی چرخه کالوین ممانعت به‌عمل آورده و تنفس، جذب و انتشار عناصر غذایی و سوخت‌وساز نیتروژن و سولفات را در گیاهان مختل می‌نماید" (۲۱). لاکالی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی با بررسی اثر کادمیم بر شاخص‌های تحت کشت گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) دریافتند که آلودگی خاک باعث کاهش تنوع ریزجانداران و آنزیم‌های خاک می‌شود (۲۲). مشایخی و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند کاربرد تیمار ۸۰ میلی‌گرم کلرید کادمیوم در کیلوگرم خاک نسبت به تیمارهای ۴۰ و ۳۰ به‌ترتیب باعث کاهش ۵/۷۵ و ۹/۳۶ درصدی طول ساقه گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinali* L.) شد (۲۳). اثرات سوء ناشی از کادمیم در گیاهان برای اولین بار در گوجه‌فرنگی گزارش شد (۲۴). سازمان بهداشت جهانی حد مجاز کادمیم در محصولات کشاورزی را ۰/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام کرده است (۲۵). در ایران گزارش‌هایی دال بر تجمع کادمیم در برخی محصولات زراعی به‌ویژه پیاز و سیب‌زمینی تا حد ۰/۵۷ میلی‌گرم در کیلوگرم، برنج تا حد ۰/۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و در سبزی‌ها از جمله اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تا حد ۰/۸۷ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش شده است (۲۶). کلیبنستین (۲۰۰۴) گزارش کرد، یکی از سازوکارهای حفاظتی غیرآنزیمی تحریک شده تحت تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش فلزات سنگین، مانند کادمیم تولید ترکیبات فنلی می‌باشد. این ترکیبات در شرایط مطلوب محیطی نیز در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند، اما مقدار آن‌ها در سلول، تحت تنش‌های محیطی مختلف تغییر می‌یابد (۲۷). عظیم‌زاده و همکاران (۲۰۱۳) در پراکنش عامل آلودگی فلزات سنگین بیان نمودند، عناصر سرب، روی و مس تحت‌تأثیر فعالیت‌های انسانی بوده و عناصر کادمیم و نیکل نیز بیش‌تر تحت کنترل عوامل طبیعی مانند مواد مادری و نیز فعالیت‌های کشاورزی هستند (۲۸). شکرزاده و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند، از میان فلزات سنگین کروم، کادمیوم و سرب در نمونه برنج مناطق تحت مطالعه، فلز کادمیوم در مناطق جویبار از استان مازندران بالاتر از استاندارد بوده است (۲۹).

آلودگی خاک با فلزات سنگین به‌دلیل اثرات نامطلوب آن بر سلامت بوم‌نظام و امنیت غذایی به یک نگرانی جهانی تبدیل شده است و هم‌چنین به‌دلیل تأثیر عناصر سنگین بر تولید کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو، محتوای کلروفیل در برگ می‌تواند معیاری برای سنجش بروز سمیت محسوب گردد و از آن‌جا که گونه‌های مختلف گیاهان در قبال آلودگی فلزات سنگین از جمله کادمیم واکنش‌های متفاوتی از خود بروز می‌دهند، در سال‌های اخیر توجه زیادی به افزایش تنوع سامانه‌های تولیدی با افزودن تعداد گونه‌های گیاهی برای به حداکثر رساندن کارآیی استفاده از منابع در مقایسه با نظام‌های تک‌کشتی شده است. و افزایش کارآیی استفاده از منابع در کشت مخلوط منجر به افزایش عملکرد مجموع دو گونه در مقایسه با کشت خالص و جداگانه همان محصولات در همان سطح زمین می‌شود. این تأثیر مثبت به‌علت

تفاوت‌ها در توانایی رقابت برای عوامل رشدی بین اجزاء مخلوط در زمان و فضا، بهبود حاصلخیزی خاک از طریق افزودن نیتروژن به روش تثبیت زیستی توسط جزء لگوم می‌باشد (۳۰). با توجه به این‌که کشت مخلوط لگوم‌ها با دیگر گیاهان از جمله سیب‌زمینی به‌عنوان یک راهبرد بادوام برای افزایش کمیت و کیفیت سیب‌زمینی است و اکثر کشاورزان استان‌های شمالی ایران محصولات زراعی را در قطعات کوچک و خرد شده به‌صورت مخلوط کشت می‌کنند، این پژوهش به‌بررسی اثر سطوح متفاوت کادمیم بر رنگدانه‌های گیاهی به‌عنوان یکی از عامل‌های مؤثر در فرایند فتوسنتز، هم‌چنین مقادیر ترکیبات فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حبوبات (باقلا و نخودفرنگی) و سیب‌زمینی به‌صورت کشت خالص و مخلوط می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کادمیم بر رنگدانه‌های گیاهی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهان (باقلا، نخودفرنگی و سیب‌زمینی) سه آزمایش جداگانه در شرایط گلدانی اجرا شد. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج سطح کادمیم (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و پنج سطح کشت شامل تک‌کشتی باقلا، تک‌کشتی نخودفرنگی، تک‌کشتی سیب‌زمینی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا (۱:۱) و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی (۱:۱) در ۴ تکرار در دو سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه ایستگاه تحقیقات باغبانی قائم‌شهر مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های کادمیم شامل صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک که به شکل نیترات کادمیم نیترات کادمیم ($Cd(No_3)_2$) به‌خاک اضافه شد. مقدار هر یک از تیمارهای یاد شده بر اساس نمک موردنظر برای استفاده در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی برای تک‌کشتی و ۲۰ کیلوگرمی برای کاشت مخلوط محاسبه شد. ابتدا خاک مورد نظر هوا خشک شد (مشخصات فیزیکی شیمیایی خاک در آزمایشگاه اندازه‌گیری گردید). پس از خشک شدن، تیمار کادمیم با خاک مخلوط و سپس خاک‌های آلوده به‌مدت دو هفته نگه‌داری گردید تا به شرایط طبیعی نزدیک شد. باتوجه به نتایج آزمون خاک (جدول ۱) و حدود بحرانی، عناصر غذایی مورد نیاز به خاک اضافه گردید. سپس کاشت بذور سیب‌زمینی (رقم سانته)، باقلا (رقم لوزودی اوتونو) و نخودفرنگی (رقم وولف) در گلدان‌ها به‌صورت تک‌کشتی و مخلوط در اوایل آذر انجام گردید. بذور باقلا و نخودفرنگی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران و سیب‌زمینی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان تهیه گردید. بذرهای یکنواخت پس از ضدعفونی با قارچ‌کش ویتاواکس (غلظت یک در هزار) در گلدان‌های تعیین شده در عمق‌های ۳ سانتی‌متر (بذر نخودفرنگی)، ۵ سانتی‌متر (بذر باقلا) و ۸ سانتی‌متر (غده سیب‌زمینی) کشت شدند. در هر گلدان ۶ عدد از بذور باقلا، نخودفرنگی و غده‌های سیب‌زمینی کاشته و پس از دو هفته تعداد گیاهان به دو عدد در هر گلدان تقلیل داده شد. گیاهان درابتدا در شرایط کنترل‌شده گلخانه با درجه حرارت (۳+ ۲۵ درجه حرارت سانتی‌گراد در روز و ۳ + ۱۵ درجه حرارت سانتی‌گراد در شب) نور طبیعی روزانه پرورش یافتند و پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها، گلدان‌ها به هوای آزاد منتقل شدند. میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه (FC) که ۱۸ درصد وزنی بود، نگهداری شد. این کار با وزن کردن روزانه گلدان‌ها و افزودن آب مقطر به مقدار لازم انجام شد. پس از برداشت گیاهان درمرحله گل‌دهی باقلا و نخودفرنگی و آغاز غده‌بندی در سیب‌زمینی (۷۰ روز بعد از کاشت) شستشوی ریشه توسط آب مقطر، اندام هوایی از ریشه جدا گردید. نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون

در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها نیز با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و سپس نمونه‌های خشک‌شده به‌وسیله آسیاب برقی با محفظه استیل، آسیاب شدند.

اندازه‌گیری رنگدانه‌های گیاهی: به‌وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر (Analytik Jena SPEKOL1300) به روش پورا (۲۰۰۲) غلظت‌های کاروتنوئید، کلروفیل a و b در برگ باقلا، نخودفرنگی (مرحله گلدهی) و سیب‌زمینی (مرحله غده‌بندی) اندازه‌گیری گردید (۳۱).

اندازه‌گیری فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدان یک هفته پس از اندازه‌گیری رنگدانه‌های گیاهی، گیاهان برداشت‌شده با استفاده از نیتروژن مایع پودرشده و عصاره‌گیری متانولی از آن‌ها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه داخل فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شده و پس از اضافه‌کردن ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری به‌مدت نیم ساعت در دمای ۳۰ درجه اولتراسونیکو قدرت ۱۲۰ هرتز[1] انجام گرفت. از طریق روش فرهوش و موسوی (۲۰۰۶) با کمی تغییرات عصاره مورد نیاز جهت اندازه‌گیری فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدان فراهم گردید (۳۲).

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنل کل: مقدار ترکیبات فنل کل با معرف فولین- سیکالتو تعیین شد. برای سنجش مقدار ترکیبات فنل کل به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره ($1:10 g.ml^{-1}$)، ۵ میلی‌لیتر فولین- سیکالتو (۱:۱۰ رقیق شده با آب مقطر) و سپس Na_2Co_3 آبی (۱M) به مقدار ۴ میلی‌لیتر به آن اضافه شده و ۱۵ دقیقه بعد، جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۳).

اندازه‌گیری مقدار فلاونوئیدهای کل: برای تعیین مقدار فلاونوئیدها از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده گردید. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (۰/۵ ml از $1:10 g.ml^{-1}$) به‌صورت جداگانه با ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱M)، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد متانول)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب هر ترکیب واکنشی در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین[2] حاصل گردید (۳۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش‌های احیاء رادیکال آزاد DPPH، ترکیب رادیکالی پایدار چربی‌دوست با جذب بیشینه ۵۱۷ نانومتر استفاده شد. طبق روش سانچز مورونو و همکاران (۱۹۹۹) برای سنجش میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی با DPPH، سه میلی‌لیتر از عصاره متانولی به یک میلی‌لیتر DPPH ۰/۱ میلی‌مولار اضافه گردید. بعد از نیم ساعت تاریکی جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد و در نهایت میزان به‌دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH اندازه‌گیری شد (۳۴).

A_{sample} و A_{blank} به‌ترتیب میزان جذب نوری کنترل منفی (فاقد عصاره) و عصاره را بیان می‌کند و I% مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد و نمودارها با استفاده نرم‌افزار SigmaPlot و Excel رسم شدند.

1- Elmasonic

2- Quercetin, Sigma Chemical Co.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش.

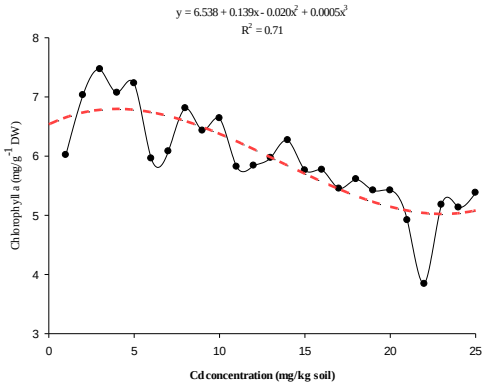
Table 1. Some physical and chemical properties of the experimental soil.

سال Year	بافت خاک Soil texture	نیتروژن Nitrogen (%)	ماده آلی Organic Matter (%)	کربن آلی Organic Carbon (%)	پتاسیم قابل‌جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Absorbable K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر قابل‌جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Absorbable P ($mg.kg^{-1}$)	هدایت الکتریکی EC ($Ds.m^{-1}$)	اسیدیته pH
۱۳۹۷ 2018	لومی Loam	0.163	2.24	1.30	243	34.1	0.50	7.71
۱۳۹۸ 2019	لومی شنی Clay Loam	0.160	2.20	1.28	118	13.3	0.58	7.80

نتایج و بحث

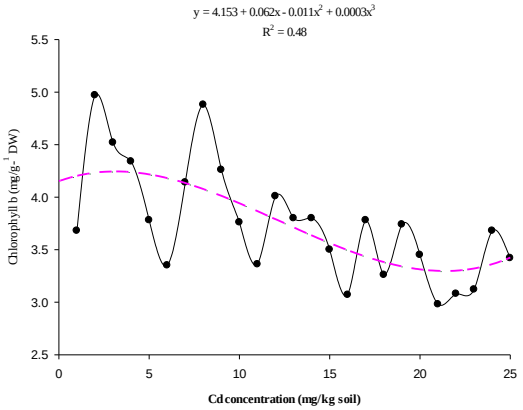
اثر غلظت مختلف کادمیم بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید: غلظت کلروفیل برگ‌ها شاخص مستقیم سلامتی گیاه، وضعیت رشد و شاخصی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌باشد. روند تغییرات رنگدانه‌های فتوسنتزی در پاسخ غلظت مختلف کادمیم (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نشان داد با افزایش غلظت کادمیم به‌طور معنی‌داری میزان رنگدانه‌های کلروفیل a و کلروفیل b کاهش یافت (جدول ۳).

در این پژوهش، در هر پنج الگوی کاشت (تک‌کشتی سیب‌زمینی، تک‌کشتی باقلا و تک‌کشتی نخودفرنگی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) با افزایش غلظت کادمیم کاهش کاروتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b به شکل پلینومیال بود. با کاربرد بالاترین سطح کادمیم (۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک) میزان این شاخص‌ها کاهش چشمگیری داشت (جدول ۳). کاهش کلروفیل a، با اضافه شدن سطوح کادمیم در هر پنج الگوی کاشت روند تقریباً مشابهی داشت (شکل ۱).



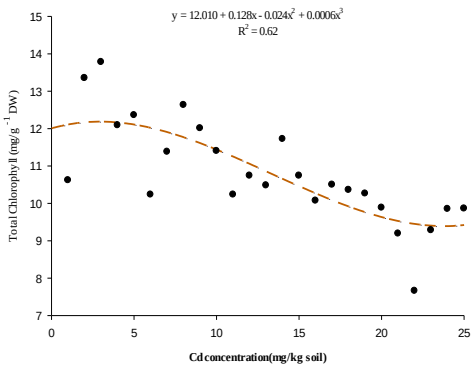
شکل ۱- رابطه رگرسیونی کلروفیل a در پاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 1. Regression relationship of Chlorophyll a in response to increasing soil cadmium concentration.



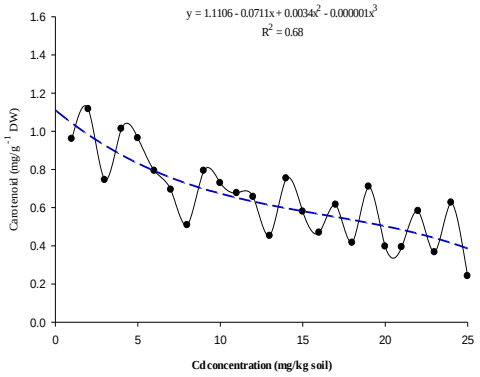
شکل ۲- رابطه رگرسیونی کلروفیل b درپاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 2. Regression relationship of Chlorophyll b in response to increasing soil cadmium concentration.



شکل ۳- رابطه رگرسیونی کلروفیل کل (a,b) در پاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 3. Regression relationship of total Chlorophyll (a,b) in response to increasing soil cadmium concentration.



شکل ۴- رابطه رگرسیونی کاروتنوئید در پاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 4. Regression relationship of Carotenoid in response to increasing soil cadmium concentration.

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب صفات گیاه- شیمیایی، گیاه سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی به‌صورت تک‌کشتی و مخلوط تحت سطوح مختلف کادمیم.

Table 2. Combined analysis variance of phytochemical properties of potato, faba bean and garden pea plant in monoculture and intercropping under different levels of cadmium.

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Square						
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید کل Total carotenoid	فنل کل Total phenole	فلاونوئید کل Total flavonoid	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) Antioxidant activity
سال Year (Y)	1	30.414 **	71.579**	3.305*	0.532 **	4.303 *	0.00646**	4.772**
تکرار× سال Replication × Y	6	0.862	0.957	0.688	0.041	0.688	0.000001	2.284
الگوی کاشت Planting Pattern	4	3.546 **	3.851**	9.487**	0.146 *	9.486 **	0.000018**	5.155 **
کادمیم Cadmium	4	16.427**	2.0273*	38.522**	0.045 ns	38.521**	0.000026**	4.850**
الگوی کاشت × کادمیم Planting Pattern × Cd	16	2.615**	1.798**	8.425**	0.098 ns	8.425**	0.000025**	3.362**
الگوی کاشت × سال Year × Planting Pattern	4	3.198*	0.627ns	6.353*	0.058 ns	6.353**	0.000011**	8.284*
کادمیم × سال Year × Cadmium	4	11.914**	1.998*	26.160**	0.221*	26.160**	0.000039**	4.529**
الگوی کاشت × کادمیم × سال Planting Pattern × Cd × Y	16	1.771**	1.649**	6.183**	0.072 ns	6.182**	0.000026**	3.166**
اشتباه Error	199	0.678	0.647	1.268	0.067	1.268	0.000006**	0.0001
ضریب تغییرات (درصد) CV%		13.85	21.42	10.41	23.36	10.26	1.02	2.28

* و ** به‌ترتیب، اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد، ns غیرمعنی‌دار

*, ** and ns respectively significant at 5%, 1% level of probability and not significant respectively

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم معنی‌دار بود (جدول ۲). هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد کاهش کلروفیل a در گیاه باقلا به افزایش سطوح کادمیم در خاک حساس‌تر از بقیه تیمارها بود (جدول ۳). با افزایش غلظت کادمیم میزان فتوسنتز کاهش پیدا کرد، به‌ویژه این کاهش در غلظت‌های بالاتر کادمیم بیش‌تر بود (شکل ۱). در غلظت کادمیم صفر (شاهد)، کلروفیل a در گیاه باقلا ۷/۰۳ میلی‌گرم کادمیم در خاک بود. با افزایش غلظت کادمیم در خاک، کلروفیل a کاهش یافت و در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، مقدار کلروفیل a موجود در گیاه باقلا به ۳/۸۴ میلی‌گرم کادمیم در خاک رسید. به‌عبارت دیگر، با افزایش غلظت کادمیم در خاک، مقدار کلروفیل a ۸۳/۰۷ درصد کاهش یافت (جدول ۳). هم‌چنین کشت مخلوط سیب‌زمینی با باقلا با کاهش ۳۸ درصد در رتبه دوم قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کادمیم در خاک، کاهش کلروفیل a در باقلا به افزایش سطوح کادمیم در خاک حساس‌تر از بقیه تیمارها بود. در نتیجه گیاه باقلا، کلروفیل a بیش‌تری را جذب و ذخیره می‌کند (جدول ۳). شکل ۱ نشان می‌دهد، روند تغییرات بین سطوح افزایش غلظت کادمیم با کلروفیل a در گیاه سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی به‌صورت تک‌کشتی و مخلوط با افزایش مقدار کادمیم خاک در غلظت ۳۰-۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روند کاهشی بیش‌تری داشته است. کاهش کلروفیل a در تیمارهای به‌کار برده شده (R^2=۰/۷۱) با شیب ۰/۰۲۰-، کاهش کلروفیل b (R^2=۰/۴۸) با شیب ۰/۰۱۱- و کاهش کاروتنوئید (R^2=۰/۶۸) با شیب ۰/۰۷۱- بود (شکل‌های ۱، ۲ و ۳). اما در این پژوهش شدت کاهش کاروتنوئیدها نسبت به کلروفیل a و کلروفیل b بیش‌تر بود (شکل ۴). کارتنوئیدها پلی‌هیدروکربن‌های اشباع‌نشده‌ای می‌باشند که ۲ تا ۴ درصد وزن خشک کلروپلاست‌ها را تشکیل داده و قادر به جذب نور در طول موجی هستند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌گردد (۳۵). در گزارشی توسط کایرکام (۲۰۰۶) بیان شده که غلظت کادمیوم در اندام‌های مختلف گیاه به خصوصیات ژنتیکی و غلظت این فلز در محیط کشت بستگی دارد (۱۴). حبوبات به تنش‌های کادمیم حساس هستند، تنش‌های کادمیم منجر به کاهش زیست‌توده گیاهی و عملکرد محصولات می‌شود (۳۶). پیرسلووا و همکاران (۲۰۱۶) در طی پژوهشی در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند، کاهش محتوای کلروفیل a در دو غلظت مختلف کادمیوم (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در خاک) در ریشه گیاه باقلا باعث کاهش ۳۱/۷ و ۲۸/۶۸ درصدی نسبت به شاهد گردید. در صورتی‌که کاهش کاروتنوئید به‌ترتیب (۳۹/۴۰ و ۳۸/۳۸ درصد) و کاهش کلروفیل b در غلظت (۱۰۰ میلی‌گرم در خاک)، ۶/۹۸ درصد بود (۳۷). میهانجیو و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند، کادمیم مانع سنتز کلروفیل در گیاه باقلا شده و باعث تسریع تجمع کاروتنوئید در مریستم برگ می‌گردد (۳۸). گاجی‌وسکا و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند، فلزات سنگین به‌علت اختلال در سنتز رنگدانه کلروفیل و نیز افزایش تجزیه آن، باعث کاهش در میزان کلروفیل در بافت‌های گیاهان تیمار شده با فلز می‌شوند (۳۹). آراویند و پراسارد (۲۰۰۳) نیز گزارش کردند، کادمیم باعث کاهش سنتز کلروفیل b از طریق جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های مؤثر در مراحل مختلف تشکیل کلروفیل می‌گردد (۴۰).

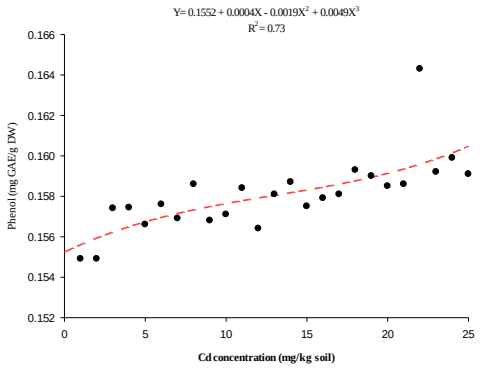
در این پژوهش غلظت کادمیم در کم‌ترین مقدار (صفر)، مقدار کلروفیل b در گیاه باقلا ۴/۹۷ و در کشت مخلوط با سیب‌زمینی ۴/۳۴ میلی‌گرم کادمیم در خاک بود. با افزایش غلظت کادمیم در خاک، کلروفیل b کاهش یافت، به‌طوری‌که در غلظت ۳۰ میلی‌گرم

کاهش مقدار کلروفیل b در گیاه باقلا و کشت مخلوط باقلا با سیب‌زمینی به‌ترتیب به ۳/۰۸ و ۳/۶۸ میلی‌گرم کادمیم در خاک رسید. به‌عبارت دیگر، با افزایش غلظت کادمیم در خاک، مقدار کلروفیل b کاهشی برابر با ۶۱/۳ و ۱۷/۹ درصدی داشت (جدول ۳). کایرکام (۲۰۰۶) گزارش کرد ارتباط مستقیمی بین غلظت کادمیم تجمع یافته در گیاهان و غلظت کادمیم در خاک می‌باشد، به‌طوری‌که مقدار کادمیم جذب شده به‌وسیله ریشه نسبت به اندام هوایی با افزایش غلظت کادمیم در خاک افزایش بیش‌تری می‌یابد (۱۴). کاهش در میزان کلروفیل کل در اثر کادمیم می‌تواند به‌علت اثر بازدارندگی روی فعالیت مولکول‌های آن باشد (۴۱). کلرفیل کل در برگ، ساقه و ریشه گیاه باقلا با افزایش غلظت کادمیوم (از ۵ تا ۳۰ میلی‌گرم در خاک) دچار افت قابل‌توجهی شد (جدول ۲). حساسیت تیمارها نسبت به افزایش غلظت کادمیوم به‌ترتیب باقلا (۷/۶۶)، سیب‌زمینی (۹/۱۹) و نخودفرنگی (۹/۲۸) میلی‌گرم کادمیم در خاک بودند و هم‌چنین از نظر آماری کشت مخلوط سیب‌زمینی با باقلا و نخودفرنگی در یک گروه قرار گرفت و کلروفیل کل آن‌ها به‌ترتیب (۹/۸۵ و ۹/۸۶) میلی‌گرم کادمیم در خاک بود (جدول ۳). حساسیت میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به افزایش غلظت کادمیوم به‌ترتیب کلروفیل a و کلروفیل b سپس کاروتنوئیدها بودند. بالاترین کادمیم در بین تیمارهای مورد آزمایش در غلظت شاهد مربوط به تک‌کشتی گیاه نخودفرنگی (۱۳/۷۸) میلی‌گرم کادمیم در خاک بود که کاهشی برابر با ۴۸/۵ درصدی داشت (جدول ۳). یانگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند در نخودفرنگی، با افزایش غلظت کادمیم (۵، ۱۰، ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) وزن خشک اندام هوایی و ریشه، مقدار آب موجود در گیاه غلظت کلروفیل a، b، کاروتنوئید و نسبت کلروفیل a/b در غلظت بالای کادمیم کاهش محسوسی داشته است (۴۲). هم‌چنین لاک‌شامان و همکاران (۱۹۹۹) در طی پژوهشی بیان نمودند، افزودن کادمیوم به کلروپلاست‌های جداشده نخودفرنگی عملکرد فتوسیستم II را مختل می‌کند بدون این‌که هیچ‌گونه تأثیر مشخصی روی فتوسیستم 1 داشته باشد (۴۳). جانسکایتین (۲۰۱۲) نشان داد، غلظت ۶ میلی‌مولار کادمیم باعث بسته شدن روزنه، و افزایش کارایی استفاده از آب به مقدار ۱۱۹/۴ درصد در نخودفرنگی گردید و میزان تعرق را بیش از فتوسنتز کاهش داد (۴۴). مبارک و همکاران (۲۰۲۰) او نشان دادند، با افزایش غلظت بالاتر از ۴۰۰ میکرومولار کادمیم در نخودفرنگی کاهش قابل‌توجهی در سنتز کلروفیل ایجاد شد (۴۵). از علل دیگر کاهش کلروفیل کل توسط فلزات سنگین از جمله کادمیوم، تأثیر روی جمع شدن مولکول‌های کلروفیل در کمپلکس‌های رنگدانه پروتئین فتوسیستم‌ها، مهار سنتز پروتئین سیستم جمع‌آوری‌کننده نور II (LHCII) در مرحله نسخه‌برداری که منجر به فتواکسید شدن کلروفیل تازه تشکیل شده می‌گردد (۴۶).

کاروتنوئیدها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد، میزان کاروتنوئیدها تحت‌تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۲). در غلظت کادمیم صفر (شاهد)، میزان کاروتنوئیدها در تیمارهای آزمایشی (سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی به‌صورت تک‌کشتی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) کم‌ترین مقدار را داشت ولی با افزایش کادمیم در غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک از بین تیمارهای مورد آزمایش کشت مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی، به‌ترتیب با ۰/۱۴۳ و ۰/۲۴۱ میلی‌گرم کادمیم در خاک بیش‌ترین شیب نزولی را به خود اختصاص دادند (شکل ۴). واسیم و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند، میزان غلظت و مدت زمان تجمع کادمیوم روی شاخص‌های

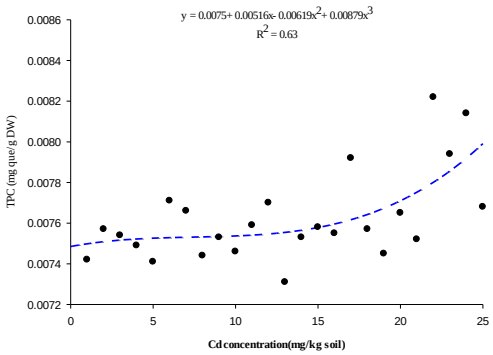
فیزیولوژیکی سیب‌زمینی و زیستی خاک تأثیر منفی و بازدارندگی داشت (۴۷). ژائودانگ و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند بیش‌ترین تجمع کادمیم در قسمت‌های فشرده و اسفنجی برگ و روی سطوح دانه‌ای بیضوی نشاسته در غده‌های سیب‌زمینی قرار دارد، هم‌چنین در پاسخ به افزایش کادمیم، محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA) افزایش و مقدار کلروفیل a و b کاهش یافت (۴۸). آلسوکاری (۲۰۰۹) نیز بیان داشت، میزان رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در گیاه گوجه‌فرنگی با افزایش کادمیم کاهش می‌یابد (۴۹) و کاهش در میزان کاروتنوئیدها در گیاه سورگوم تیمار شده با کادمیم (۵۰) تأییدی بر نتایج آزمایش حاضر می‌باشد. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پنج سطوح کشت شامل تک‌کشتی باقلا، تک‌کشتی نخودفرنگی، تک‌کشتی سیب‌زمینی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی تحت‌تأثیر سمیت کادمیم قرار گرفتند و کاهش چشمگیری در شاخص‌های مرتبط با رنگدانه روی داد و به‌دلیل دارا بودن آنتی‌اکسیدانی کافی و افزایش هم‌زمان این ترکیبات در گیاهان برای مقابله با تنش، سازوکار دفاعی گیاهان فعال می‌شود.

ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدان تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیم: مقایسه میانگین میزان کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استخراج شده توسط حلال‌های متانول و اتانول ۸۰ درصد در جدول ۳ آورده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر کادمیم بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش غلظت کادمیم از شاهد صفر به (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) به‌طور معنی‌داری بر ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت (جدول ۳) و با افزایش سطوح غلظت کادمیم میزان فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدان در هر سه گیاه باقلا، نخودفرنگی و سیب‌زمینی افزایش یافت (جدول ۳).



شکل ۵- رابطه رگرسیونی فنل در پاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 5. Regression relationship of Phenol in response to increasing soil cadmium concentration.



شکل ۶- رابطه رگرسیونی فلاونوئید در پاسخ به افزایش غلظت کادمیم خاک.

Fig. 6. Regression relationship of Flavonoids in response to increasing soil cadmium concentration.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید کل، فنل کل، فلاونوئیدکل گیاه سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی در تک‌کشتی و مخلوط تحت سطوح مختلف کادمیم.

Table 3. Mean comparison of Chlorophyll a, Chlorophyll b, Total Chlorophyll, Total carotenoid, Total Phenol, Total Flavonoids, Antioxidant Activity of potato, faba bean and garden pea plant in monoculture and intercropping under different levels of cadmium.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	فلاونوئیدکل Total Flavonoids (mg que/g DW)	فنل کل Total Phenol (mg GAE/g DW)	کاروتنوئید کل Total carotenoid (µg/g DW)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (µg/g DW)	کلروفیل b Chlorophyll b (µg/g DW)	کلروفیل a Chlorophyll a (µg/g DW)	الگوی کاشت Planting Pattern	غلظت کادمیوم Cd Concentration (mg kg^{-1})
31.10 e	0.00742 g-i	0.1579 g-i	0.960 a-c	10.62 fg	3.68 d-i	6.02 d-h	تک‌کشتی سیب‌زمینی Monoculture Potato	0
37.77 b-e	0.00757 c-h	0.1564 m	1.116 a	13.35 ab	4.97 a	7.03 a-c	تک‌کشتی باقلا Monoculture FabaBean	
38.52 b-e	0.00754 e-h	0.1592 c-e	0.745 a-d	13.78 a	4.52 a-c	7.47 a	تک‌کشتی نخودفرنگی Monoculture Garden Pea	
32.60 c-e	0.00749 f-h	0.1590 d-f	1.013 ab	12.09 cd	4.34 a-d	7.07 ab	مخلوط سیب‌زمینی + باقلا Inter cropping (Potato+FabaBean)	
35.42 b-e	0.00741 hi	0.1585 e-g	0.964 a-c	12.36 b-d	3.78 c-i	7.23 ab	مخلوط سیب‌زمینی + نخود Inter cropping (Potato+ Garden Pea)	
31.60 d-e	0.00771 c	0.1586 d-g	0.793 a-d	10.23 g-i	3.35 f-i	5.96 e-i	تک‌کشتی سیب‌زمینی Monoculture Potato	5
39.52 b-e	0.00766 c-e	0.1549 b	0.694 a-e	11.38 d-f	4.14 b-f	6.08 d-h	تک‌کشتی باقلا Monoculture FabaBean	
42.83 a-e	0.00744 f-i	0.1581 g-i	0.508 c-e	12.63 bc	4.88 ab	6.81 a-d	تک‌کشتی نخودفرنگی Monoculture Garden Pea	
38.14 b-e	0.00753 d-h	0.1587 d-g	0.793 a-d	12.01 cd	4.26 a-e	6.43 b-f	مخلوط سیب‌زمینی + باقلا Inter cropping (Potato+FabaBean)	
39.67 b-e	0.00746 f-i	0.1571 j-m	0.729 a-d	11.402 d-f	3.76 c-i	6.64 b-e	مخلوط سیب‌زمینی + نخودفرنگی Inter cropping (Potato+ Garden Pea)	
36.80 b-e	0.00759 c-g	0.1549 n	0.676 a-e	10.23 g-i	3.36 f-i	5.82 f-j	تک‌کشتی سیب‌زمینی Monoculture Potato	10
38.12 b-e	0.00770 cd	0.1569 j-m	0.656 a-e	10.74 e-g	4.01 c-g	5.84 f-j	تک‌کشتی باقلا Monoculture FabaBean	
41.63 a-e	0.00731 i	0.1593 cd	0.452 de	10.48 fg	3.80 c-h	5.97 e-i	تک‌کشتی نخودفرنگی Monoculture Garden Pea	
43.94 a-e	0.00753 d-h	0.1568 k-m	0.753 a-d	11.72 c-e	3.80 c-h	6.27 c-g	مخلوط سیب‌زمینی + باقلا Inter cropping (Potato+FabaBean)	
38.82 b-e	0.00758 c-h	0.1566 lm	0.579 b-e	10.74 fg	3.50 e-i	5.76 f-j	مخلوط سیب‌زمینی + نخودفرنگی Inter cropping (Potato+ Garden Pea)	

ادامه جدول ۳-

Continue Table 3.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) Antioxidant activity (%)	فلاونوئیدکل Total Flavonoids (mg que/g DW)	فنل کل Total Phenol (mg GAE/g DW)	کاروتنوئید کل Total carotenoid (µg/g DW)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (µg/g DW)	کلروفیل b Chlorophyll b (µg/g DW)	کلروفیل a Chlorophyll a (µg/g DW)	الگوی کاشت Planting Pattern	غلظت کادمیوم Cd Concentration (mg kg^{-1})
45.28 $^{b-e}$	0.00755 $^{c-h}$	0.1576 $^{h-j}$	0.469 ^{de}	10.07 $^{g-i}$	3.07 ^{hi}	5.77 $^{f-j}$	تک‌کشتی سیب‌زمینی Monoculture Potato	20
40.55 $^{a-e}$	0.00792 ^{b}	0.1581 $^{g-i}$	0.615 $^{b-e}$	10.50 ^{fg}	3.78 $^{c-i}$	5.45 $^{h-k}$	تک‌کشتی باقلا Monoculture FabaBean	
45.30 $^{a-e}$	0.00757 $^{c-h}$	0.1586^{d-g}	0.416 ^{de}	10.36 $^{g-i}$	3.26 $^{g-i}$	5.61 $^{g-k}$	تک‌کشتی نخودفرنگی Monoculture Garden Pea	
47.14 $^{a-c}$	0.00745 $^{f-i}$	0.1599 ^{bc}	0.710 $^{a-d}$	10.26 $^{g-i}$	3.74 $^{c-i}$	5.42 $^{h-k}$	مخلوط سیب‌زمینی + باقلا Inter cropping (Potato+FabaBean)	
47.07 $^{a-d}$	0.00765 $^{c-f}$	0.1591 $^{d-f}$	0.396 ^{de}	9.88 $^{g-i}$	3.45 $^{e-i}$	5.42 $^{h-k}$	مخلوط سیب‌زمینی + نخودفرنگی Inter cropping (Potato+ Garden Pea)	
35.98 $^{a-d}$	0.00752 $^{d-h}$	0.1584 $^{f-h}$	0.393 ^{de}	9.19 ^{i}	2.98 ^{i}	4.916 ^{k}	تک‌کشتی سیب‌زمینی Monoculture Potato	30
43.24 $^{a-e}$	0.00822 ^{a}	0.1643 ^{a}	0.582 $^{b-e}$	7.66 ^{j}	3.08 ^{hi}	3.84 ^{l}	تک‌کشتی باقلا Monoculture FabaBean	
48.76 $^{a-b}$	0.00794 ^{b}	0.1574 $^{i-l}$	0.366 ^{de}	9.28 ^{hi}	3.12 ^{hi}	5.18 $^{i-k}$	تک‌کشتی نخودفرنگی Monoculture Garden Pea	
56.03 ^{a}	0.00814 ^{a}	0.15744 $^{i-l}$	0.626 $^{b-e}$	9.85 $^{g-i}$	3.68 $^{d-i}$	5.13^{jk}	مخلوط سیب‌زمینی + باقلا Inter cropping (Potato+FabaBean)	
42.40 $^{a-e}$	0.00768 $^{c-e}$	0.1575 $^{i-k}$	0.241 ^{e}	9.86 $^{g-i}$	3.42 $^{g-i}$	5.38 $^{h-k}$	مخلوط سیب‌زمینی + نخودفرنگی Inter cropping (Potato+ Garden Pea)	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

Means with at least one similar letter have no significant difference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test

بیش‌ترین مقدار محتوای فنل کل در مقدار ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار (سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) با ۴۷/۰۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک و در دوز ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در تیمار (سیب‌زمینی+ باقلا) با ۵۶/۰۳ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک که نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۲/۸ و ۷۳/۵ درصد افزایش داشته است (جدول ۳). با این حال، در دیگر تیمارها افزایش کمی از فنل دیده شد (شکل ۵). در حقیقت تولید و انباشت ترکیبات فنلی باعث افزایش میزان تحمل عناصر سنگین مانند کادمیم در گیاهان می‌شود. بارنده و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش کردند، افزایش ترکیبات فنلی می‌تواند نشانه‌ای از سازوکارهای مقاومت گیاهان در برابر تنش ناشی از عناصر سنگین مانند کادمیم باشد (۵۱). اوه و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند، ترکیبات فنلی دارای خاصیت

آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن مانع اکسیداسیون مولکول‌های زیستی سلول می‌شود (۵۲).

نتایج داده‌های تجزیه واریانس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد، غلظت‌های مختلف کادمیم در هر پنج تیمار (سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی به‌صورت تک‌کشتی و مخلوط سیب‌زمینی + باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدان در مقدار ۲۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار مخلوط (سیب‌زمینی + نخودفرنگی) با ۴۷/۰۷ درصد و در دوز ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک در تیمار مخلوط (سیب‌زمینی+ باقلا) با ۵۶/۰۳ درصد بود که نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۲/۸ و ۷۳/۵ درصد افزایش داشته است و کم‌ترین مقدار آنتی‌اکسیدان مربوط به گیاه سیب‌زمینی با ۳۱/۶۰ درصد در تیمار ۵ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک بود (جدول ۳). در پژوهشی نشان داده شد، با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال پایدار، تبادل اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیب‌های شیمیایی و عصاره‌های مختلف از روی میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش DPPH در متانول سنجیده می‌شود (۳). با توجه به‌این‌که IC_{50} بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره‌ای است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد (۵۳) بنابراین مقادیر کم‌تر IC_{50} نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر خواهد بود. شاخص IC_{50} اندازه‌گیری‌شده در تیمارهای مورد بررسی، طیف گسترده‌ای را از بیشینه ۵۶/۰۳ تا کمینه، ۳۱/۱۰ در صد به‌ترتیب در تیمار کشت مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا در غلظت ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک و صفر به خود اختصاص داد و در رتبه بعدی گیاه نخودفرنگی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در خاک بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر تیمارها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند (جدول ۳).

در این پژوهش (شکل‌های ۵ و ۶) احتمالاً به‌دلیل پایین بودن تنش اکسیداتیو در سلول‌های باقلا و نخودفرنگی نسبت به سیب‌زمینی با افزایش غلظت کادمیم، محتوای فنل و فلاونوئید در سیب‌زمینی افزایش کم‌تری نسبت به بقیه تیمارها داشت. هم‌چنین در این پژوهش، به‌دلیل تمایل واکنش بیش‌تر در رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاه باقلا باعث گردید که رنگ محلول به‌دست آمده در باقلا نسبت به سایر تیمارها کم‌تر بوده و بیانگر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در باقلا بود. هم‌چنین تغییر رنگ حاصله از واکنش رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها بسته به نوع گیاه و سطوح کادمیم متفاوت بود که تأییدی بر نتایج آزمایش دیمرسی و همکاران (۵۴) بود. صابری و همکاران (۲۰۱۸) نیز بیان نمودند، گونه‌های مختلف گیاهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید متفاوتی دارند و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی به غلظت عناصر سنگین و نوع گیاه بستگی دارد (۵۵).

افزایش ترکیبات فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمام سطوح غلظت کادمیوم گیاهان مورد مطالعه نسبت به شاهد (شکل‌های ۵ و ۶) ممکن است به‌دلیل تحریک سامانه دفاعی گیاهان در پاسخ به تنش ناشی از عناصر سنگین باشد. رنجبر و همکاران (۲۰۱۷) بیان داشتند، هنگامی که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم‌های سم‌زدایی پایین‌تر از تولید رادیکال‌های آزاد در سلول باشد، آسیب‌های وارده ناشی از تنش رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها بیش‌تر شده و بالاتر بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها می‌باشد و شواهد موجود نیز ارتباط مثبتی

بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از گیاهان را نشان می‌دهد (۵۶). در این مطالعه گیاه باقلا بیش‌ترین میانگین فنل (۰/۱۶۴۳ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) و کشت مخلوط (سیب‌زمینی + باقلا) بیش‌ترین فلاونوئید (۰/۰۰۸۱۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و آنتی‌اکسیدان (۵۶/۰۳ درصد) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک حاصل شد (جدول ۳). در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد روند افزایشی در میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدان با افزایش سطوح کادمیم در هر پنج تیمار (سیب‌زمینی، باقلا و نخودفرنگی به‌صورت خالص و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) وجود دارد (شکل‌های ۵ و ۶). در نهایت می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هر سه گیاه باقلا، نخودفرنگی و سیب‌زمینی برای مقابله با تنش، میزان فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده‌اند. به‌عبارتی فنل و فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر کادمیم نقش حفاظتی عمده‌ای در پاسخ به سمیت کادمیم ایفا می‌کنند. در این پژوهش گیاه باقلا و کاشت مخلوط (سیب‌زمینی + باقلا) از لحاظ صفات مورد بررسی برتر از تیمارهای موجود ظاهر شدند و با بیش‌ترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی از فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH نیز برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف (تک‌کشتی باقلا، تک‌کشتی نخودفرنگی، تک‌کشتی سیب‌زمینی و مخلوط سیب‌زمینی+ باقلا و سیب‌زمینی+ نخودفرنگی) از نظر مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند بیانگر نقش گیاه و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. به‌طور کلی از یافته‌های این پژوهش، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که این گیاهان (باقلا، نخودفرنگی و سیب‌زمینی) به تنش عناصر سنگین واکنش نشان داده‌اند و سمیت با کادمیم در هر سه گیاه منجر به القاء ترکیبات فنلی شد. از آن‌جا که این گیاهان به‌عنوان بیش‌ترین تامین‌کننده پروتئین و هیدروکربن نقش زیادی در جیره غذایی به‌ویژه در مناطق شمالی ایران دارند؛ ممکن است علاوه بر عناصر ضروری حتی حاوی عناصر مضر در محدوده وسیعی از غلظت‌ها باشند و این گونه گیاهان آلوده، یک تهدید برای سلامتی انسان به حساب می‌آیند. بنابراین لازم است میزان جذب این عناصر هم بررسی گردد و در صورت نتیجه مطلوب، به‌عنوان گیاهی با قابلیت تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عاری از عناصر سنگین توصیه شود.

منابع

1. Amiri, A., Parsa, S.R., Nezami, M. and Ganjeali, A. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. J. Puls. Res. 1: 69-84.
2. Fernandez Aparicio, M., Sillero, J.C. and Rubials, D. 2007. Intercropphing with cereals reduces infection be orobanche crenata in legumes. Crop Pro. 26: 1166-1172.
3. Ayneband, A. 2014. Ecology of agricultural systems. Shahid Chamran Uni. Press. Ahvaz, Iran. pp. 250-261. (In Persian)
4. Babula, P., Adam, V., Opatrilova, R., Zehnalek, J., Havel, L. and Kizek, R. 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. Environ. Chem. Letters. 6: 189-213.

5.Pagotto, C., Rémy, N., Legret, M. and Le Cloirec, P. 2001. Heavy metal pollution of road dust and roadside soil near a major rural highway. Environ. Technol. 22: 3. 307-319.
6.Firouzkoohi, F., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Mohkami, Z. and Yosefzaei, F. 2018. The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of (*Momordica charantia* L.) cultured in Sistan region. Eco-phytochemical J. Medicinal Pl. 5: 4. 74-85.
7.Yan, H., Filardo, F., Hu, X., Zhao, X. and Fu, D. 2016. Cadmium stress alters the redox reaction and hormone balance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. Environ. Sci. Pollution Res. 23: 3758-3769.
8.Duruibe, J.O., Oguwuegbu, M.O.C. and Egwurugwu, J.N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. Int. J. Physi. Sci. 2: 5. 112-118.
9.Girdhar, M., Sharma, N.R., Rehman, H., Kumar, A. and Mohan, A. 2014. Comparative assessment for hyperaccumulatory and phytoremediation capability of three wild weeds. 3. Biotech, 4: 6. 579-589.
10.Maleki, A., Zazoli, M.A. and Shokrzadeh, M. 2009. Investigation of cadmium content in Iranian rice (*Oryza Sativa* L.). J. Appl. Sci. Environ. Manage. 11: 101-105.
11.Dias, M.C., Monteiro, C., Moutinho Pereira, J., Correia, C., Goncalves, B. and Santos, C. 2013. Cadmium toxicity affects photosynthesis and plant growth at different levels. Acta. Physiol. Plantarum. 35: 4. 1281-1289.
12.Amini, M., Khademi, H., Afyuni, M. and Abbaspour, K.C. 2005. Variability of available cadmium in relation to soil properties and land use in an arid region in central Iran, Water, Air Soil Pollution J. 162: 205-218.
13.Jafarnejadi, A.R., Homaee, M., Sayyad, G.A. and Bybordi, M. 2012. Evaluation of main soil properties affecting Cd concentrations in soil and wheat grains on some calcareous soils of Khuzestan Province. J. Water Soil Conse. 19: 2. 149-164.
14.Kirkham, M.B. 2006. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors hyper accumulation and amendments. Geoderma. 137: 19-32.
15.Asadi Kapourchal, S., Eisazadeh, S. and Homaee, M. 2011. Phytoremediation of cadmium polluted soils resulting from use of phosphorus fertilizers. European Biotechnology Thematic Network Association congress. Istanbul, Turkey: S37.
16.Pavilikova, D., Balik, J. and Tlustos, P. 2007. Effect of cadmium content in soil and crop rotation on cadmium accumulation in plant biomass. Eco. Chem. Engine. 14: 363-369.
17.Wangstrand, H., Eriksson, J. and Oborn, I. 2007. Cadmium concentration in winter wheat as affected by nitrogen fertilization, Euro. J. Agron. 26: 209-214.
18.Epstein, A.L., Gussman, C.D., Balaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulink, Y. and Orser, C.S. 1999. Cadmium effects on growth and mineral nutrition of two halophytes: Sesuvium portulacastrum and Mesembryan themum crystallinum. J. Plant Physiol. 162: 1133-1140.
19.Kaphi, M., Borzooei, A., Salihi, M., Masumi, A. and Nabati, J. 2010. Physiology Environmental Stresses in Plants. Publications Univ. Jihad Mashhad, 502p. (In Persian)
20.Wagner, G.J. 1993. Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. Advances in Agron. 5: 173-212.
21.Manara, A. 2012. Plant responses to heavy metal toxicity, In: Furini A (Eds.), Plants and Heavy Metals. Springer.
22.Lacalle, R.G., Gómez-Sagasti, M.T., Artetxe, U., Garbisu, C. and Becerril, J.M. 2018. Brassica napus has a key role in the recovery of the health of soils contaminated with metals and diesel by rhizoremediation. Sci. The Total Environ. 618: 347-356.
23.Mashayekhi, H.R., Baghaei, A.H. and Gmaryan, M. 2014. Effects of cadmium on some morphological parameters of marigold (*Calendula offcinalis* L.) The National Conference of Medicinal Plants

and Sustainable Agriculture. pp. 12-1. (In Persian)
24. Jia, L., Wang, W., Li, Y. and Yang, L. 2010. Heavy Metals in Soil and Crops of an Intensively Farmed Area: A Case Study in Yucheng City, Shandong Province, China. Int. J. Environ. Res. Public Health. 7: 2. 395-412.
25. Jing, D., Fei-bo, W. and Guo-ping, Z. 2005. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. J. Zhejiang Uni. Sci. B. 6: 974-980.
26. Malakooti, M. and Khashi, Z. 2014. Heavy metals contamination of drinking water supplies in southeastern villages of Rafsanjan plain: survey of arsenic, cadmium, lead and copper. J. Health Field. 1: 1. 1-12.
27. Kliebenstein, D.J. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through Arabidopsis thaliana tinged glasses. Pl. Cell Environ. 27: 675-684.
28. Azimzadeh, B. and Khademi, H. 2013. Estimation of background concentration of selected heavy metals for pollution. Assessment of surface soils of Mazandaran province, Iran. J. Water Soil. 27: 3. 548-559.
29. Shokrzadeh, M., Rokni, M. and Galstvan, A. 2013. Lead, cadmium, and chromium concentrations in irrigation supply of/and tarom rice in central cities of Mazandaran province, Iran. J. Mazand Uni. Med. Sci. 23: 98. 234-242. (In Persian)
30. Harun, I.G., Karanja, N.N., Gachene, C.K.K., Kamau, S., Sharma, K. and Geldermann, E . 2018. Nitrogen and phosphorous uptake by potato (*Solanum tuberosum* L.) and their use efficiency under potato-legume intercropping systems. Field Crops Res. 222: 78-84.
31. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Res. 73: 149-156.
32. Farhoosh, R. and Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonylvalue in rancid oils: a critical reconsideration. J. Food Lipids. 13: 298-305.
33. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in vegetables by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10: 178-82.
34. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines. J. Agri. Food Chem. 79: 1301-1304.
35. Akbarian, M.M., Heidari Sharifabad, H., Noormohammadi, G. and Darvish Kojouri, F. 2012. The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa* L.). Ann. Biol. Res. 3: 12. 5651-5658. (In Persian with English Summary)
36. Shamsi, I.H., Jilani, G., Guo-Ping, Z. and Kang, W. 2008. Cadmium stress tolerance through potassium nutrition in soybean. Asian J. Chem. 20: 2. 1099.
37. Pirselova, B., Kuna, R., Lukac, P. and Havrlentova, M. 2016. Effect of cadmium on growth, photosynthetis pigments, iron and cadmium accumulation of faba bean (*Vicia faba* L.) Agri. (Pol'nohospodárstvo). 62: 2. 72-79.
38. Mehandjiev, A., Chankova, S., Todorova, Y. and Noveva, S. 2000. Cytogenetic and Spectrometric Study on Cadmium Pollution in garden pea, Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci. 53: 4. 39-42.
39. Gajewska, E., Sklodowska, M., Slaba, M. and Mazur, J. 2006. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. Biol. Plantarum. 50: 4. 653-659.
40. Aravind, P. and Prasad, M.N.V. 2003. Zinc alleviates cadmium-induced stress in (*Ceratophyllumdemersum* L.) a free floating freshwater macrophyte. J. Physiol. Biochem. 41: 391-397.
41. Simopoulos, A.P. 2004. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. Biol. Res. 37: 263-277.
42. Ying, R.R., Qiu, R.L., Tang, Y.T., Hu, P., Q, H., Chen, H., ShiTai, H. and Morel, J. L. 2010. Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and

chloroplast in Zn/Cd hyperaccumulator Picris divaricate. J. Plant. Physiol. 167: 2. 81-87.
43. Lakshaman, K.C. and Surinder Kumar, S. 1999. Photosynthetic activities of garden pea seedlings grown in presence of cadmium. Pl. Physiol. Biochem. 37: 4. 297-303.
44. Januskaitiene, I. 2012. The effect of cadmium on several photosynthetic parameters of garden pea (*Pisum sativum* L.) at two growth stages. Žemdirbystė (Agr.): 99. 1. 71-76. ref. 31.
45. Mubarak, S., Sageri, A., Wijaya, L., Alyemeni, M.N. and Parviz, A. 2020. Impact of different cadmium concentrations on two garden pea (*pisum sativum* L.) genotypes. Pak. J. Bot. 52: 3. 821-829.
46. Horvath, G., Droppa, M., Oravecz, A., Raskin, V.I. and Marder, J.B. 1996. Formation of the photosynthetic apparatus during greening of cadmium poisoned barley leaves. Planta. 199: 238-243.
47. Waseem, H., Rizwana, B., Safdar, B. and Zubair, A. 2016. Cadmium toxicity and soil biological index under potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivation. Soil Res. 54: 4. 460-468.
48. Xu, D., Chen, Z., Sun, K., Yan, D., Kang, M. and Zhao, Y. 2013. Effect of cadmium on the physiological parameters and the subcellular cadmium localization in the potato (*Solanum tuberosum* L.). Ecotoxicology Environ. Safety. 97: 147-153.
49. Alsokari, S.S. 2009. Modulatory role of kinetin on photosynthetic characteristics, yield and yield attributes of cadmium-treated *Sorghum bicolor* plants. J. Appl. Sci. Res. 5: 12. 2383-2396.
50. Gouia, H., Ghorbal, M.H. and Meyer, C. 2001. Effect of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. J. Plant Physiol. 38: 629-638.
51. Barandeh, F. and Kavousi, H.R. 2016. Effect of cadmium on changes of some enzymatic and none-enzymatic antioxidant defense systems in lentil (*Lens culinaris* L.) seedlings Iranian J. Puls. Res. 7: 2. 125-137.
52. Oh, M.M., Trick, H.N. and Rajasheka, C.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. J. of Pl. Physiol. 166: 2. 180-191.
53. Gharibi, S., Tabatabaei, B.E.S., Saeidi, G., Goli, S.A.H. and Talebi, M. 2012. Effect of drought stress on some physiological properties and antioxidant activity of (*Achillea tenuifolia*. L.). J. Herbal Drug. 3: 181-190.
54. Demirci, B., Kosar, M., Demirci, F., Dinç, M. and Başer, K.H.C. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of (*Chaerophyllum libanoticum* L.) Boiss. Kotschy. Food Chem. 105: 4. 1512-1517.
55. Saberi, M., Niknahad, H., Heshmati, G.A, Barani, H. and Alireza Shahriari, A.R. 2018. Evaluation of the content and performance of some active ingredients extracts of (*Citrullus colocynthis* L.) organs from two habitats of Sistan and Balochestan province in different growth stages. J. of Pl. Eco. Conservation. 6: 11. 49-63.
56. Ranjbar, M., Mohammadi, M. and Amjad, L. 2017. Lead and spermidine interact on physiological and biochemical indexes of plants *Salvia officinalis* L. J. Pl. Process. Funct. Physiol. 6: 21. 103-114.