

Kadmiyum'un *Vicia peregrina* L. Tohumlarının Çimlenmesi, Kök Gelişimi ve Kök Ucu Hücreleri Üzerindeki Mitotik Etkileri

The Effects of The Cadmium on The Seed Germination, Root Growth and Root Tip Cell Mitotic Divisions of Vicia Peregrina L.

Osman Gedik¹, Yaşar Kıran¹, Ahmet Şahin²

¹Firat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

¹Erciyes Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğt., Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Öz

Bu çalışmada, önemli çevre kirleticilerinden biri olan kadmiyum (CdCl₂)' un bir yem bitkisi olan fiğ (*Vicia peregrina*) tohumlarının çimlenmesi, kök büyümesi ve kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemelerde Cd+2 un farklı konsantrasyonları (0.125, 0.250, 0.500, 1 ve 2 mM Cd+2) kullanılmıştır. Düşük Cd++ konsantrasyonları ile muamele edilen tohumların çimlenmesinde kontrole göre belirgin bir farkın olmadığı, ancak yüksek konsantrasyonlarda çimlenmenin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca uygulanan tüm konsantrasyonlarda, kök büyümesi kontrole göre engellenmiştir. Kadmiyum' un konsantrasyon artışına paralel olarak, hücre bölünmesinin azaldığı, metafaz plağında toplanamama, anafazda kalgın kromozom, köprü ve telofazda geri kalmış kromozom gibi çeşitli mitotik anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, Mitoz, Kadmiyum, *Vicia peregrina*

Abstract

In this study, the effects of cadmium (CdCl₂) one of the significant environmental pollutant, on seed germination, root growth and mitotic divisions of the root tip cells of vetch (*Vicia peregrina*) were investigated. Different concentrations (0.125, 0.250, 0.500, 1 ve 2 mM Cd+2) of cadmium were applied. It was observed that there are no significant differences in the germination of seeds that exposed to low cadmium concentrations. On the other hand, at higher concentrations of cadmium inhibited germination. In addition, root growth was inhibited according to the control group at all concentrations. In parallel to the increase of the cadmium concentrations cell division was decreased, several mitotic anomalies such as, don't gather on metaphase plate, lagging chromosomes in anaphase, chromosome bridges and lagging chromosomes in telophase were increased.

Keywords: Heavy metals, Mitosis, Cadmium, *Vicia peregrina*

1. Giriş

Ağır metallerde biri olan kadmiyum; çevreyi kirleten etmenlerin başında yer alan (Stresty ve Madhava Rao 1999) bitki büyüme ve gelişimi için zorunlu olmamasının yanı sıra toksik özellikte bir element olup (Leita vd. 1991, Wang vd. 2009) hücrelerde biyokimyasal ve fizyolojik zararlara neden olduğu bilinmektedir (Mc Laughlin ve Singh 1999). Bitkilerde kadmiyum birikimi ve kadmiyum'un insan sağlığına etkisi son yıllarda dikkat çeken araştırma konularından biridir (Dorris vd. 2002, Tsadilas vd. 2005). Kadmiyum' un toprakta doğal olarak

bulunmasının dışında antropojenik kaynaklardan atmosfer vasıtasıyla, tarım arazilerine kanalizasyon çamurunun uygulanmasıyla ve gübre kullanımı yoluyla kadmiyum ilavesi olmaktadır (Manta vd. 2002, Komarnicki 2005). Kadmiyum'u absorbe etme, biriktirme ve tolere etme bakımından hem bitki türleri hem de aynı türün genotipleri arasında büyük farklılıklar görülmektedir (Guo-Yan vd. 1995). Kadmiyum'un değişik tarımsal bitki türlerinde çimlenme, büyüme, verim ve kalite de azalma meydana getirdiği ve bitkilerde kadmiyum toksisitesinin yol açtığı morfolojik ve fizyolojik tahribatın saptanması konularında bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır (Bertin ve Averbek 2006). Birçok ülke tarımsal bitkilerinde maksimum izin verilebilir kadmiyum sınır değerlerini belirlemiştir (Zhou vd. 2000, Nan ve Cheng 2001, Nan vd. 2002, Xiong vd. 2004, Cui vd. 2004). İnsan ve hayvan-

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: ykiran@firat.edu.tr,
biyosman@hotmail.com

larda protein, lipid ve DNA'nın bozulmasına neden olan serbest radikallerin çoğalmasına sebep olduğu da bilinmektedir (Miller vd. 2010). Bitkilerde kadmiyum toksitesinin oksidatif hücre zararlarının bir sonucu olduğu, bu nedenle tolerans bakımından serbest oksijen radikallerini detoksifiye etme kapasitesinin önemli olduğu bilinmektedir (Shah vd. 2001, Olmos vd. 2003). Kadmiyum bitkiler ve hayvanlar için gerekli bir element olmasının yanısıra, sınır değerlerin aşılması durumunda toksik etki meydana getirmektedir. Genellikle bitki metabolizması ve enzim reaksiyonları üzerinde negatif etki meydana getirir (Yang vd. 1986). Yapılan çalışmalar kadmiyum'un yüksek konsantrasyonlarda klorofil mutasyonuna sebep olduğu görülmüştür (Reddy ve Vaidyanath 1978). Bunlara ek olarak kadmiyum'un kök hücrelerinde mitotik indeksin azalmasına (Zhang ve Yang 1994), kromozomal anomalilikler ve mikronükleus oluşumu (Oehlkers 1953, Ruposhev 1976, Li ve Zheng 1992), çekirdek yapısında bozulma (Jiang vd. 1994), DNA ve RNA sentezinde anormalliklere sebep olduğu görülmüştür (Enger vd. 1997, Degraeve 1981). Bütün bu veriler göstermektedir ki kadmiyum normal bitki büyüme periyodunu geciktirmekte ya da engellemektedir. Ayrıca bitkilerin genetik potansiyellerini sınırlandırarak ya da engelleyerek kayda değer ürün kayıplarına sebep olmaktadır (Kiran ve Sahin 2006).

Türkçe adı "Fiğ" olan *Vicia* L. cinsi ülkemizde 62 tür ile yayılış göstermektedir. Bu çalışmanın konusunu *Vicia peregrina* L. (kavli) türü oluşturmaktadır (Ertekin 2012).

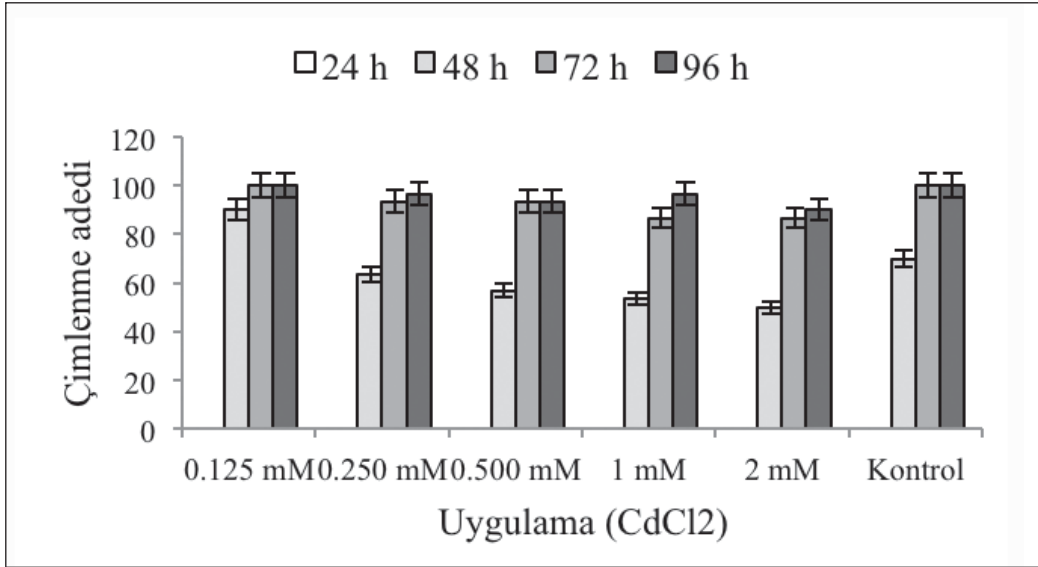
2. Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada bir yem bitkisi olan *Vicia* (*Vicia peregrina*), ağır metal olarak da kadmiyum (Cd^{++})'un klor tuzu ($CdCl_2$) kullanılmıştır. Çözeltilerin tamamı bidestile su (pH=6.3) kullanılarak hazırlanmıştır. Deney grubu için hazırlanan farklı (0.125, 0.250, 0.500, 1 ve 2 mM $CdCl_2$) konsantrasyonlardaki Cd^{++} ve kontrol grubu olarak musluk suyu kullanılmıştır. Tohumlar her çözeltiden 30 ml alınarak üç buçuk saat $26\text{ }^{\circ}C$ ' lik etüvde bekletildikten sonra her çözeltiden 20 ml alınarak petri kağıtları ıslatıldı ve ekim yapılarak $23-24\text{ }^{\circ}C$ ' deki etüve yerleştirildi. Her 24 saatte bir çimlenen tohum sayısı kaydedilerek 96 saat süresince takip edildi. 96 saat sonra her bir gruba ait kök uçlarının boyu milimetrik olarak ölçüldükten sonra kesilerek; 24 saat asetikasit: alkol (1:3) içerisinde bekletilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra kök uçları, $60\text{ }^{\circ}C$ 'de 1N HCl ile etüvde 5 dakika hidroliz edildi ve Feulgen reaktifi ile 1 saat boyandı. 15 dakika musluk suyunda bekletilen kök uçlarının uç kısmındaki koyu boyanan 1-2 mm' lik büyüme meristemleri kesildi

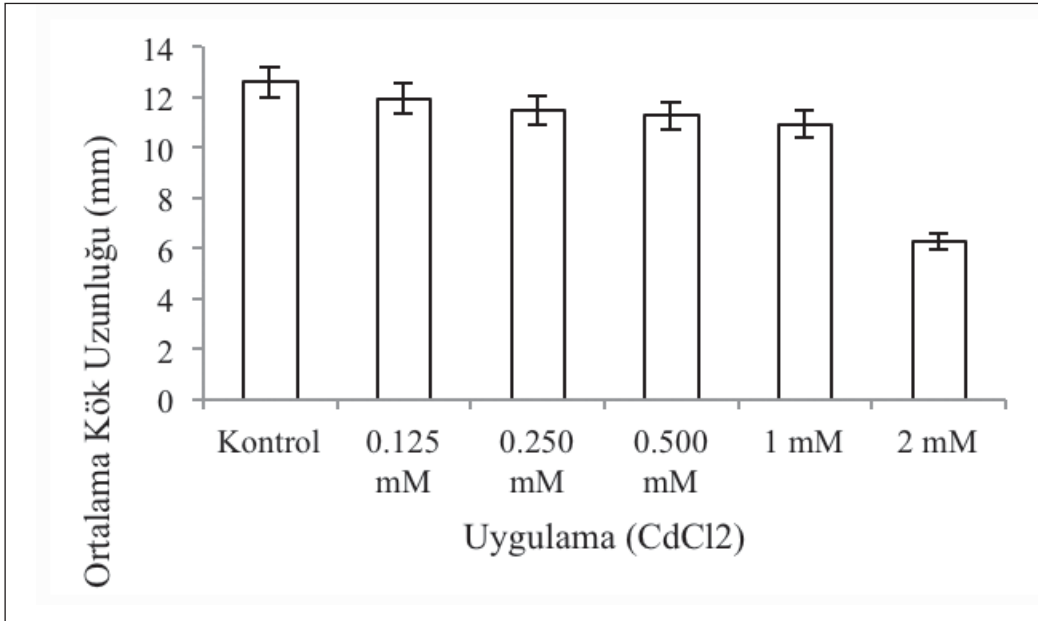
ve %45'lik asetikasit ortamında ezme preparatları yapıldı (Sharma ve Sharma 1982).

3. Bulgular

Farklı konsantrasyonlarda ki kadmiyum (Cd^{++}) çözeltileriyle muamele edilen ve edilmeyen *Vicia* tohumlarının çimlenme oranları radikula belirimi esasına göre tespit edilmiş ve sonuçlar Şekil 1'de, ayrıca 96 saat sonra ölçülen ortalama kök uzunlukları da şekil 2'de verilmiştir. Şekil 1'in incelenmesinden anlaşılacağı gibi Cd^{++} un 0.125 mM'lık konsantrasyonu tohumların çimlenmelerini engellememiş aksine çimlenmeyi teşvik etmiştir. Fakat 0.125 mM'ın üzerindeki konsantrasyonlarda tohum çimlenmesinin azaldığı Şekil 1 görülmektedir. Şekil 2'nin incelenmesi sonucunda da Cd^{++} konsantrasyonu artışına paralel olarak kök uzunluğunda büyümenin önemli derecede engellendiği görülmektedir. Mitotik indeks hücre bölünme frekansını yansıtır ve kök gelişim oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır (Jiang and Liu 2000). Çizelge 1'den de görüleceği gibi Cd^{++} konsantrasyonu artışına bağlı olarak mitotik indeks azalmış dolayısıyla bu azalmaya paralel olarak kök uzaması da olumsuz olarak etkilenmiştir. Mitotik gözlemler sonucunda *Vicia peregrina*'nın kontrol grubuna ait kök ucu hücrelerindeki normal fazlar şekil 3'te, kadmiyuma maruz bırakılan kök ucu hücrelerinde meydana gelen anormallikler şekil 4'te verilmiştir. 0.125 mM'lık Cd^{++} ile 96 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 1500 hücrenin 109'unda bölünme görüldü. Bu konsantrasyonda ki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 25 hücrede metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 3 hücrede kalgın kromozom, 13 hücrede köprü ve 8 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1). 0.250 mM'lık Cd^{++} ile 96 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 1500 hücrenin 77'sinde bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 18 hücrede metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 2 hücrede kalgın kromozom, 6 hücrede köprü ve 4 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1). 0.500 mM'lık Cd^{++} ile 96 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 1500 hücrenin 59'unda bölünme görüldü. Bu konsantrasyonda ki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 23 hücrede metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 1 hücrede kalgın kromozom, 12 hücrede köprü ve 7 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1). 1 mM'lık Cd^{++} ile 96 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 1500 hücrenin 48'inde bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 27 hücrede



Şekil 1. Kadmiyum klorür (CdCl₂)'ün *Vicia* tohumları çimlenmesi üzerine etkileri.



Şekil 2. Kadmiyum klorür (CdCl₂)'e maruz bırakılan *Vicia* tohumlarının 96 saat sonra ölçülen ortalama kök uzunluğu.

metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 4 hücrede kalın kromozom, 13 hücrede köprü ve 9 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1). 2 mM'lık Cd⁺⁺ ile 96 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 1500 hücrenin 35'inde bölünme görüldü. Bu konsantrasyonda ki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 26 hücrede metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 8 hücrede kalın kromozom, 10 hücrede köprü ve 12 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1). Kontrol grubunda sayılan 1500 hücrenin 186'sında bölünme görüldü. Bu gruptaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; 4 hücrede metafaz plağında toplanamama, anafaz'da 1 hücrede

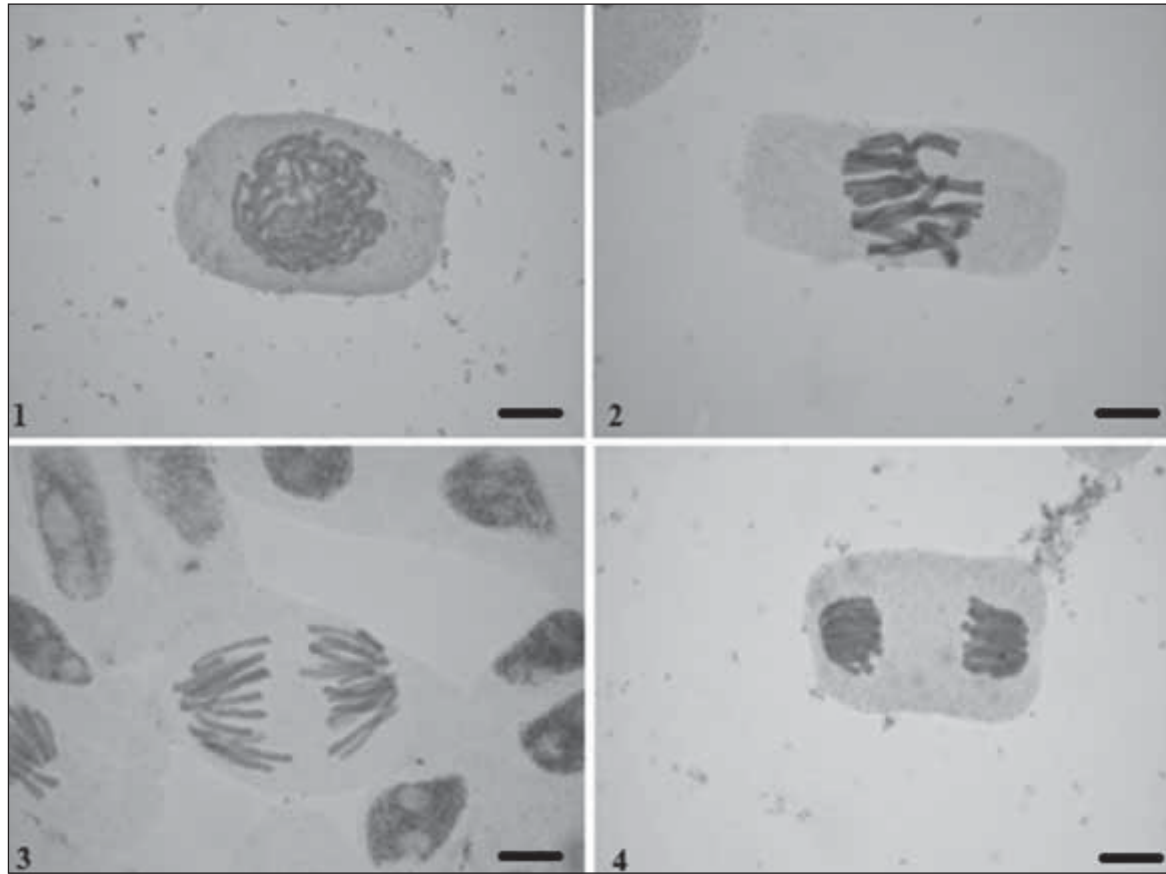
kalın kromozom, 3 hücrede köprü ve 2 hücrede telofaz da geri kalmış kromozom şeklindedir (Çizelge 1).

4. Sonuçlar ve Tartışma

Bu çalışmada, kadmiyum klorür dozlarının tamamının tohum çimlenmesi, kök uzaması ve kök ucu hücrelerindeki mitoz bölünme üzerinde olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak mitotik indeks azaldığı ve kromozomal anormalliklerin arttığı, çimlenen tohum sayısının ve kök uzamasının azaldığı tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada CdCl₂'ün farklı konsantrasyonları (0.125, 0.250, 0.500, 1 ve 2 mM CdCl₂) kullanılmış olup bu konsantrasyonlara ait veriler Şekil 1,

Çizelge 1. Kadmiyum (CdCl₂)' un *Vicia peregrina* kök ucu hücrelerindeki mitotik etkileri

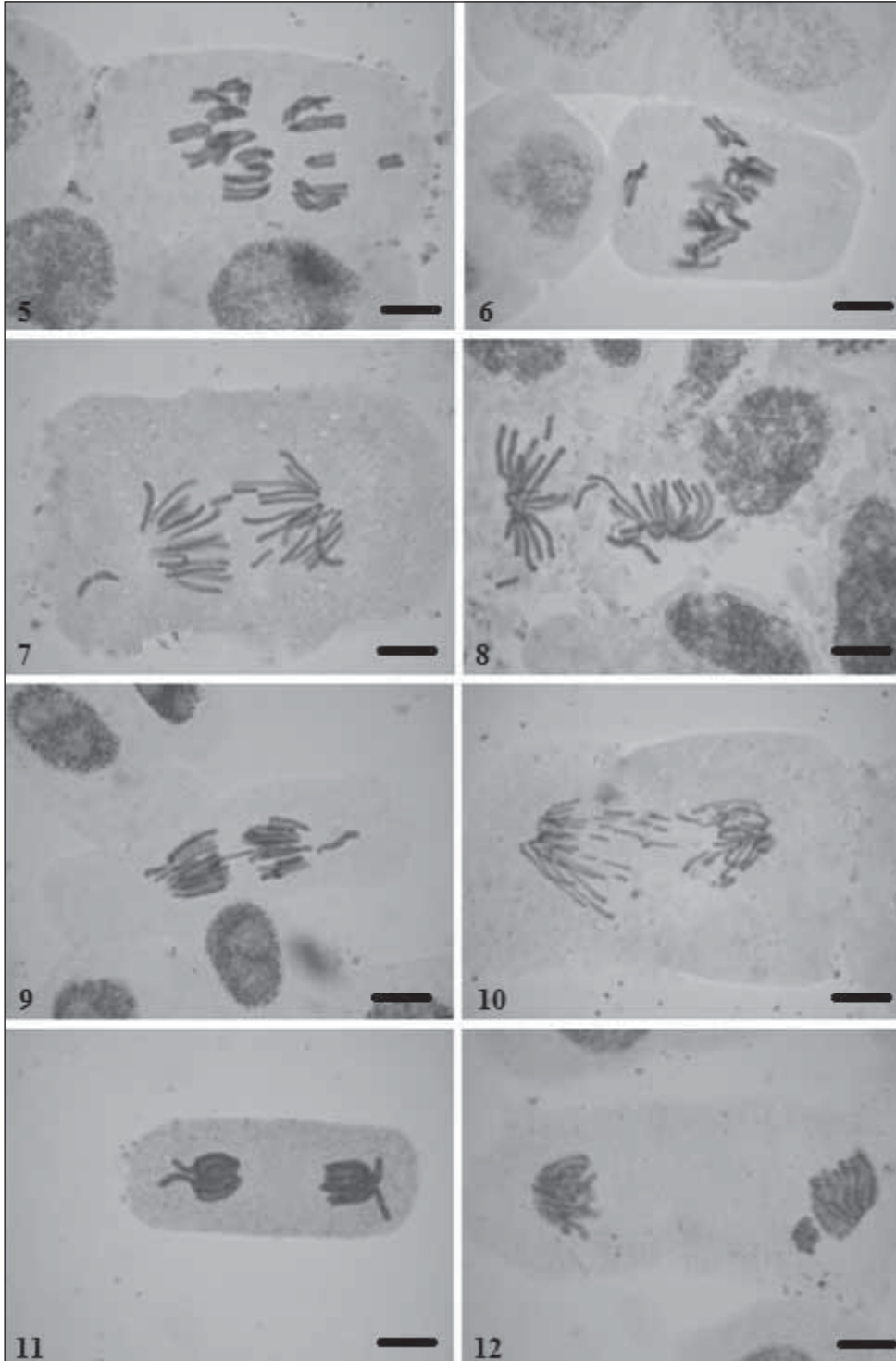
Uygulama	Sayılan toplam hücre	Mitotik indeks (%)	Kromozom anormallilikleri (%)	Normal bölünen hücre	Anormal bölünen hücre sayısı			
					Metafaz plağında toplanamama	Anafaz kalgın kromozom	Anafaz köprü	Telofaz da geri kalmış kromozom
Kontrol	1500	15.86	6.98	186	4	1	3	2
0.125 mM	1500	10.66	44.95	109	25	3	13	8
0.250 mM	1500	7.13	38.96	77	18	2	6	4
0.500 mM	1500	6.80	55.93	59	23	1	12	7
1 mM	1500	6.73	110.41	48	27	4	13	9
2 mM	1500	6.26	160	35	26	8	10	12



Şekil 3. *Vicia peregrina*'nın normal mitotik safhaları;
1- Profaz,
2- Metafaz,
3- Anafaz,
4- Telofaz (Scala bar=10µm).

2, 3, 4 ve Çizelge 1'de görülmektedir. Yapılan çalışmalarda *Vicia faba*' da insektisidlerin kalgın kromozom, kromozom yapışmaları, köprü gibi kromozom anormalliklerine sebep olduğunu rapor edilmiştir (Zakia vd. 1990). Bakır klorür' ün mitoz bölünmeyi azalttığı, hücrelerde kromozomal değişimlere neden olduğu ve bu şekilde

normal hücre bölünme düzeninin değiştiği anlaşılmıştır. Aynı zamanda bakır klorür' ün doz ve zaman artışına bağlı olarak mitotik indeksi de azaltmıştır (Inceer ve Beyazoglu 2000). Benzer bir çalışmada krom nitrat ve potasyum dikromat gibi kromlu bileşiklerin farklı dozları *Allium cepa* kök ucu hücrelerine uygulanmış ve bu bile-



Şekil 4. Kadmiyum' un çeşitli konsantrasyonlarının neden olduğu mitotik anormallikler; 5- Metafaz plağında toplanamama, 6- Metafazda kalgın kromozom, 7- Anafazda kalgın kromozom, 8- Anafazda kutup kayması, 9- Anafazda köprü ve kalgın kromozom, 10- Anafazda fragment oluşumu, 11- Telifazda geri kalmış kromozom, 12- Multipolar telifaz (Scala bar=10µm).

şiklerin mitotik indeksi azalttığı tespit edilmiştir (Liu vd. 1992). Domates ve fasulye bitkilerinde yapılan bir çalışmada ise 0-50 mM CdCl₂ içeren besin çözeltilerinin 7 gün süre ile bitkilere uygulanması durumunda, kadmiyum uygulamasının sürgün ve kök kuru ağırlık üretimi üzerinde baskılayıcı etkileri belirlenmiş, ayrıca kadmiyum uygulanan bitkilerin yapraklarında ve köklerinde nitrat redüktaz aktivitesinde azalmalar görülmüştür (Quariti vd. 1997). *Coriandrum sativum* bitkisi üzerine toprak ve atmosferdeki yüksek kadmiyum seviyelerinin etkilerini belirlemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada bitkiler 0.10 ya da 100 ppm kadmiyum ile kontamine edilen topraklarda gelişmeye bırakıldıklarında, gövde ve kök uzamasında, umbella sayısında önemli bir azalma, yapraklarda sararma, ultrastrüktürel değişiklikler ve meyvelerdeki uçucu yağ bileşiminde dikkat çekici azalmalar görülmüştür (Pasquale vd. 1995). Kadmiyum; insan, hayvan ve bitkiler için toksik etkili bir elementtir. Bitki bünyesinde azot ve karbonhidrat metabolizmalarını değiştirmesi nedeniyle birçok fizyolojik değişikliğe neden olmaktadır. Ayrıca, proteinlerin -SH gruplarındaki enzimleri inaktive etmekte, fotosentezi engellemekte, stomaların kapanmasına, transpirasyon ile su kaybının azalmasına ve klorofil biyosentezinin bozulmasına neden olmaktadır (Sheoran vd. 1990). Yapmış olduğumuz bu çalışmadan elde edilen bulgular *V. peregrina*'nın kadmiyum kirliliğine toleranslı bir bitki olmadığını ortaya koymaktadır. Çalışılmış diğer bitki türlerinde olduğu gibi kadmiyumun önemli bir yem bitkisi olan fiğın çimlenme ve kök büyümesini engellediği, mitotik indeksi azalttığı ve çeşitli mitotik anormalliklere sebep olduğu görülmektedir.

6. Kaynaklar

- Bertin, G., Averbek, D. 2006.** Cadmium; cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88: 1549-1559.
- Cui, YJ., Zhu, YG., Zhai, RH., Chen, DY., Hang, YZ., Qiu, Y., Liang, JZ. 2004.** Transfer of metal from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning China. *Environ. Int.*, 30: 785-791.
- Degraeve, N. 1981.** Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutat Res.*, 86: 115-135.
- Dorris, J., Atieh, BH., Gupta, RC. 2002.** Cadmium uptake by radishes from soil contaminated with nickel-cadmium batteries toxicity and safety considerations. *Toxicol. Mech. Method.*, 12: 265-276.
- Enger, M., Campbell, E., Rafilif, R. 1997.** Cadmium induced alteration in RNA metabolism in culture of Chinese hamster cells sensitive and resistant to the cytotoxic effects of cadmium. *J. Toxicol. Environ. Health*, 5: 711-728.
- Ertekin, AS. 2012.** *Vicia* L. In: Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT editors. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. pp. 500-505.
- Guo-Yan, T., Marschner, H., Guo, YT. 1995.** Uptake, distribution and binding of cadmium and nickel in different plant species. *J. Plant Nutr.*, 18: 2691-2706.
- Inceer, H., Beyazoglu, O. 2000.** Bakır Klorür' ün *Vicia hirsuta* (L.) S.F. Gray Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri. *Turk J. Biol.*, 24: 553-559
- Jiang, WS., Liu, DH., Li, MX. 1994.** Effects of Cd⁺² on the nucleolus in root tip cells of *Allium cepa*. *J. Environ. Sci.*, 6: 382-386.
- Jiang, W., Liu, D. 2000.** "Effects of Pb⁺² on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L." , *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 786-793.
- Kıran, Y., Şahin, A. 2006.** The Effect of Cadmium on Seed Germination, Root Development and Mitotic of Root Tip Cells of Lentil (*Lens culinaris* Medik). *W.J.A.S.*, 2(2): 196-200.
- Komarnicki, G. J. K. 2005.** Lead and cadmium in indoor air and the urban environment. *Environ Pollut.*, 136: 47-61.
- Leita, L., Contin, M., Maggioni, A. 1991.** Distribution of Cadmium and Induced Cd-Binding Proteins in roots, stems and leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Sci.*, 77: 139-147.
- Li, XL., Zheng, GR. 1992.** Study on mutagenic effects and antagonism of selenium and cadmium. *Teratogenesis Carcinog. Mutagen.*, 4: 19-21
- Liu, D., Jiang, W., Li, M. 1992.** Effect of Trivalent and Hexavalent Chromium on Root Growth and Cell Division of *Allium cepa*, *Hereditas*, 117: 23-29.
- Mc Laughlin, MJ., Singh, BR. 1999.** Cadmium in Soils and Plants. Development in Plant and Soil Sciences, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 85: 288.
- Manta, DS., Angelona, M., Bellanca, A., Neri, R., Sprovieri, M. 2002.** Heavy metal in urban soils: a case study from the city of Palermo (Sicily), Italy. *Sci. Total Environ.*, 300: 229-243.
- Miller, FS., Kilminster, K.L., Degens, B., Firms, G.W. 2010.** Relationship between metal leached and soil type from potential acid sulphate soil under acidic and neutral conditions in Western Australia. *Water. Air. Soil Poll.*, 205: 133-147.
- Nan, Z., Cheng, G. 2001.** Accumulation of Cd and Pb in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in calcareous soil irrigated with wastewater. *B. Environ. Contam. Tox.*, 66: 748-754.

- Nan, ZR., Li, JJ., Zhang, JM., Cheng, GD. 2002. Cadmium and zinc interactions and their transfer in soilcrop system under actual field. *Sci. Total Environ.*, 285: 187-195.
- Oehlkers, F. 1953. Chromosome breaks influenced by chemicals. *Heredity*, 6: 95-105.
- Olmos, E., Martinez Solano, JR., Piqueras, A., Hellin, E. 2003. Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). *J. Exp. Bot.*, 54: 291-301.
- Pasquale, R., Rapisarda, A., Germano, MP., Ragusa, S., Kirjavainen, S., Galati, EM. 1995. Effects of Cadmium on Growth and Pharmacologically Active Constituents of the Medicinal Plant *Coriandrum sativum* L. *Water Air Soil Poll.*, 84(1-2): 147-157
- Quariti, O., Gouia, H., Ghorbal, MH. 1997. Responses of Bean and Tomato Plants to Cadmium: Growth, Mineral Nutrition and Nitrate Reduction. *Plant Physiol Bioch.*, 35(5): 347-354.
- Reddy, T., Vaidyanath, K. 1978. Mutagenic potentiating and antimutagenic activity of certain metallic ions in the rice genetic system. *Curr. Sci. India*, 47: 513-515
- Ruposhev, A. 1976. Cytogenetic effect of heavy metal ions on *Crepis capillaris* L. Seeds. *Genetika*, 12: 37-43.
- Shah, K., Kumar, RG., Verma, S., Dubey, RS. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.*, 161: 1135-1144.
- Sharma, AK., Sharma, A. 1982. Chromosome Techniques-Theory and Practice, second ed., Baltimore, MD, University Park Press, 575.
- Sheoran, IS., Singal, HR., Singh, R. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *Photosynth. Res.*, 23: 345-351.
- Stresty, TVS., Madhava Rao, KV. 1999. Ultra structural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeon pea. *Environ. Exp. Bot.*, 41: 3-13.
- Tsadilas, CD., Karaivazoglou, NA., Tsotsolis, NC., Stamadiadis, S., Samaras, V. 2005. Cadmium uptake by tobacco as affected by liming, N form, and year of cultivation. *Environ. Pollut.*, 134: 239-246.
- Wang, L., Cao, J., Chen, D., Liu, X., Lu, H., Liu, Z. 2009. Role of oxidative stress, apoptosis, and intracellular homeostasis in primary cultures of rat proximal tubular cells exposed to cadmium. *Biol. Trace Elem. Res.*, 127: 53-68.
- Xiong, X., Allinson, G., Stagnitti, F., Li, P., Wang, X., Liu, W., Allinson, M., Turoczy, N., Peterson, J. 2004. Cadmium contamination of soils of the Shenyang zhanshi irrigation area, China: an historical perspective. *B. Environ. Contam. Tox.*, 73: 270-275.
- Yang, GF., Liu, QS., Zhang, CG., Shang, SH., Jing, QN., Xu, HX. 1986. The effect of lead cadmium mineral oil in soil on soil microorganism and soil enzyme, In: Z.L. Xia, Editor and study of soil Environmental Capacity. Meteorological Publishing House, Beijing, 157-164
- Zakia, MA., Fawzia, AE., Abo-El-Kheir, A., Iman-A, El-S., 1990. Alteration in Nucleic Acids Protein Content and Mitotic Division of *Vicia faba* Root Tips Cells as Affected by Malathion and Tamaron Insecticides. *Cytologia*, 55: 349-355.
- Zhang, Y., Yang, X. 1994. The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*. *Mutat. Res.*, 312: 121-126.
- Zhou, ZY., Fan, YP., Wang, MJ. 2000. Heavy metal contamination in vegetables and their control in China. *Food Rev. Int.*, 16: 239-255.