

بررسی پتانسیل گیاهان مورد (Pinus brutia) و کاج (Myrtus communis) در جذب کادمیوم^۵

اصغر مصلح آرani^۱، مهری خسروی^۲، حمید رضا عظیم زاده^۳، حمید سودایی زاده^۴، اصغر سپهوند^۵

۱. دانشیار اکولوژی گیاهی، گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

khosravimehri@yahoo.com

hrazimzadeh@yahoo.com

hsodaie@yazd.ac.ir

sapahvand@yahoo.com

۳. دانشیار خاک‌شناسی، گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۴. استادیار زراعت و اصلاح نباتات، گروه مدیریت بیابان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۵. دکتری جنگلداری، اداره کل منابع طبیعی استان لرستان

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۷

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۷/۱۰

چکیده

پژوهش حاضر به منظور مقایسه انباشت کادمیوم در ریشه و برگ ۲ گیاه مورد (Pinus brutia) و کاج (Myrtus communis)، همچنین بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کادمیوم در میزان پرولین و قندهای محلول در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. نتایج نشان دادند با افزایش غلظت کادمیوم تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان پرولین در کاج به حدود ۲ برابر افزایش یافت. افزایش کادمیوم تأثیر معنی‌داری در میزان پرولین در گیاه مورد نداشت. میزان قندهای محلول در گیاه مورد در اثر افزایش کادمیوم تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به حدود ۲ برابر افزایش یافت. بالاترین میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه کاج در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۴۸۰ پی‌پی‌ام به دست آمد که فقط ۲۹ پی‌پی‌ام (۶ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. بالاترین میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه مورد در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۵۹۳/۹ پی‌پی‌ام به دست آمد که ۱۷۷/۹۷ پی‌پی‌ام (۳۰ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. به منظور تعیین حداکثر جذب کادمیوم از طریق خاک در تیمارهای مختلف، طی آزمایش مجزا روی نمونه خاک به کارفته در گلدان‌های کشت مورد و سرو، ضرایب معادله هم‌حرارت جذب لانگمویر به دست آمد. نتایج این آزمون نشان دادند حداکثر مقدار جذب کادمیوم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در ۱ کیلوگرم خاک است. براساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد می‌توان گیاه مورد را با توجه به انتقال و انباشت مقدار زیاد کادمیوم در برگ‌ها، بهمنزله گیاه بیش انباشت‌کننده معرفی و در خاک‌های آلوده به کادمیوم بهمنزله گونه گیاه استخراجی استفاده کرد.

کلیدواژه

پرولین، کاج بروسیا، کادمیوم، گیاه پالایی، مورد.

ضروری نیست، اما به راحتی از طریق پوست ریشه جذب و از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود (Sanita and Gabbrielli, 1999). کادمیوم بر تقسیم و رشد سلول‌ها، رشد کلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (Das, et al., 1997). کادمیوم همچنین سبب کلروز و نکروز برگ‌ها (Zhang, et al., 2002)، کاهش مقدار کلروفیل کل، a و b

کادمیوم نوعی فلز آلاینده محیط است که در طبیعت متشر می‌شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. همچنین، استفاده از کودهای شیمیایی، مخصوصاً فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (Baryla, et al., 2001؛ Mejare and Bulow, 2001).

۱. سرآغاز

از طرف دیگر گونه‌های مختلف گیاهی می‌توانند به منزله فیلترهای زیستی نقش مهمی را در حذف آلودگی‌های محیطی به عهده داشته باشند. برخی از عناصر سنگین مانند سرب و کادمیوم می‌توانند جذب گیاه و در برگ یا شاخه‌ها انباسته شوند. اطلاع از این امر کمک شایانی به مدیریت طرح‌های زیست‌پالایی در مناطق آلوده می‌کند (آفتاب‌طلب، ۱۳۸۶؛ خداکرمی، ۱۳۸۶). این روش رفع آلودگی، سبب حفظ فعالیت بیولوژیک و ساختار فیزیکی خاک می‌شود و بسیار ارزان است (Pulford and Watson, 2003). همچنین، به علت هماهنگ‌بودن با محیط زیست و داشتن کمترین آسیب، بیشترین توجهات را به خود معطوف کرده است (آفتاب‌طلب، ۱۳۸۶).

گیاه‌پالایی (Phytoremediation) به فلزات سنگین شامل ۲ فرایند اصلی است که عبارت‌اند از: گیاه تثبیتی (Phytostabilization) که به تثبیت فلزات در خاک یا ریشه گفته می‌شود و گیاه استخراجی (Phytoextraction) که به معنای جذب آلاینده‌ها از طریق گیاه از محیط خاک و انتقال آن از ریشه به اندام‌های هوایی است (Pivetz, et al., 2001). گیاهان مورد استفاده در گیاه‌پالایی باید بتوانند مقدار زیادی از فلز سنگین را انباست کنند، همچنین به حضور فلز سنگین در خاک بردبار باشند و توانایی تولید زیستوده بالا در خاک آلوده را داشته باشند (McGrath, et al., 2002). در سال‌های اخیر، بررسی‌های گیاه‌پالایی بر گیاهان بیش از انباست کننده که توانایی انباست مقدار زیادی از فلزات را دارند، متمنکز شده است (Doumett, et al., 2008). تحرک و قابلیت جذب عناصر سنگین با مکانیسم‌های جذب و دفع که به ویژگی‌های خاک بستگی دارد، کترول می‌شود. ارتباط تعادلی بین مقدار ماده جذب شده در هر واحد جرم جاذب (x) و غلظت تعادل ماده جذب شده در محلول (C) در دمای مشخص «ایزوترم جذب» نامیده می‌شود (Langmuir, 1996). در این زمینه معادلات مختلفی وجود دارند که می‌توان به فرننلیچ و لانگمیر اشاره کرد. هر کدام به نوعی سعی در بیان رابطه

کاروتئیدها در گیاهان آلی (Sanita and Gabbielli, 1999 و Sheoran, et al., 2001) و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نیز می‌شود (Gouia, et al., 2001). مهم‌ترین علت اثر تخریبی کادمیوم این است که این عنصر سبب تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های آزاد سوپراکساید (O_2^- ، هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. این رادیکال‌ها در موجودات با متابولیسم‌های هوایی از طریق اندامک‌های انتقال‌دهنده الکترون مانند میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و غشای پلاسمایی تولید می‌شوند. این رادیکال‌ها به سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش می‌کنند و موجب تخریب سلول‌ها می‌شوند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند سوپراکساید دسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها و غیره) و غیرآنزیمی (مانند گلوتاتیون، اسکوربات، کاروتئیدهای توکو فرار و پرولین) استفاده می‌کنند (Shanti and Dietz, 2006). در بین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی پرولین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرولین آنتی‌اکسیدانی است که پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد است و با اتصال به کادمیوم و تشکیل کمپلکس کادمیوم-پرولین مانع سمیت این عنصر می‌شود (Alia, et al., 2001; Farago and Mullen, 1979). عناصر سنگین در بسیاری از گیاهان سبب افزایش قندهای محلول نیز می‌شوند. افزایش مقدار قندهای احیاکننده تحت شرایط تنفس شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (Duckweed, Verma and Duby, 2001). در گیاه Duckweed که یکی از گیاهان آبزی و جمع‌کننده عناصر به شمار می‌رود، اثر تیمارهای مختلف کادمیوم بررسی شد و مشخص شد در غلظت‌های زیر ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان قندهای محلول، پرولین و پروتئین‌ها افزایش یافتد (John, et al., 2009). در آرابیدوپسیس افزایش غلظت پرولین و گلوتاتیون در اثر افزایش کادمیوم گزارش شده است (Xu, et al., 2010). در تحقیق حاضر اثر کادمیوم در میزان پرولین و قندهای محلول در دو گیاه مورد و کاج بروسیا ارزیابی می‌شود.

آن از طریق تهیه قلمه نیمه سبز و کاشت بذر در پاییز صورت می‌گیرد (جزیره‌ای، ۱۳۸۴).

ریاضی تعادلی مقدار عنصر فلزی در سطح جاذب و محلول آن دارند (Li, Y. et al., 2008; Li, Q. et al., 2012).

۳. روش تحقیق

نهال‌های ۲ ساله کاج بروسیا و مورد که در مخلوط رس، ماسه و کود به نسبت مساوی کشت شده بودند، از نهالستان شهرستان خرم‌آباد تهیه شدند. نهال‌های هماندازه انتخاب و در یک طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار قرار داده شدند. برای تهیه تیمار کادمیوم از نیترات کادمیوم استفاده و دامنه‌ای از غلظت‌های کم تا خیلی زیاد ساخته شد. علت انتخاب این غلظت‌ها این بود که مقداری از کادمیوم جذب ذرات خاک می‌شود که کاهش کادمیوم در دسترس را به دنبال خواهد داشت. بنابراین، غلظت‌های ۵۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از مواد بالا ساخته شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. گلدان‌های مورد نظر طی روز از اوایل تابستان از طریق محلول‌های تهیه شده به اندازه‌های مساوی آبیاری شدند.

اندازه‌گیری مقدار پرولین: ۰/۵ گرم از برگ گیاهان توزین و در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده، سپس نمونه‌ها صاف شد. آنگاه ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند، سپس لوله‌ها نیم ساعت در حمام بخ قرار گرفتند. آنگاه به هر لوله آزمایش ۴ میلی لیتر تولوئن افزوده شد و لوله‌ها، خوب تکان داده شدند. سپس، میزان جذب لایه رنگی بالایی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر Bates, et al., (۱۳۷۳) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول: برای سنجش قندهای محلول، ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (برگ) اضافه و ۱ هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت ۱ هفته، ۱ میلی لیتر از محلول

این تحقیق میزان کادمیوم انباسته شده به وسیله ریشه‌ها و برگ‌ها در گونه کاج بروسیا و مورد را برای تعیین گونه مناسب‌تر به منظور گیاه‌پالایی مقایسه می‌کند. شناسایی گیاهان بیش انباسته‌کننده و مکانیسم تحمل آن‌ها به عناصر سنگین می‌تواند کمک شایانی برای مدیریت طرح‌های زیست‌پالایی در مناطق آلوده باشد. اطلاع از انباسته عناصر سنگین در ریشه یا اندام‌های هوایی این گیاهان نیز فرایند گیاه ثبتی یا استخراجی را مشخص و مدیران محیط‌زیستی را در ایجاد محیط پاک کمک می‌کند.

۲. مواد و روش بررسی

۱.۰۲. گیاهان مورد مطالعه

کاج بروسیا با نام علمی *Pinus brutia* از خانواده Pinaceae است. کاج بروسیا از معروف‌ترین گونه‌ها از گروه کاج‌های مدیترانه‌ای است که در جنوب و شرق اروپا پراکنده است. این گونه در خاک‌های آهکی و فقیر که عمق کمی دارند رشد می‌کند (جزیره‌ای، ۱۳۸۴). کاج بروسیا گونه‌ای کم‌توقع است که در مناطقی با زمستان‌های ملایم و تابستان‌های گرم و خشک، رشد می‌کند و از گونه‌های تندرشد محسوب می‌شود و رشد آن به ویژه در جوانی سریع است. این گیاه در پارک‌ها و ایجاد مجسمه‌های سبز و فضای سبز شهری و زیبایی منظر در زمستان استفاده می‌شود.

مورد با نام علمی *Myrtus communis* از خانواده Myrtaceae است. مورد درختچه‌ای است همیشه‌سبز و معطر، با پوست سبز و شاخه‌های فراوان که اغلب گرم‌پسند است و در مناطق گرمسیری ایران و به ندرت در نواحی معتدل و معتدل گرم می‌روید. از این گیاه با توجه به بافت نرم و انبوه آن در فضای سبز برای پرچین‌سازی و زیباسازی حاشیه‌ها و وسط چمن‌ها استفاده می‌شود. از دیاد

منظور تشریح جذب گازها به سطوح جامد معرفی شد. فرمول کلی مدل لانگمویر در معادله ۱ نشان داده شده است که در آن، x_m حداکثر جذب کادمیوم در واحد وزن خاک، K بیان کننده انرژی پیوندی سطح جاذب، C غلظت تعادلی کادمیوم در محلول خاک و x مقدار کادمیوم جذب شده در واحد وزن خاک است. به منظور کاربردی کردن این معادله و تبدیل آن به فرم خطی معادله ۱ به صورت معادله ۲ قابل دسترسی است (Goldberg, 1995).

$$x = \frac{x_m KC}{1 + KC} \quad (1)$$

$$\frac{C}{x} = \frac{1}{x_m K} + \frac{C}{x_m} \quad (2)$$

برای تعیین ضرایب معادله هم حرارت جذب لانگمویر، ابتدا از خاک مورد استفاده در گلدان‌های کاج و مورد نمونه همگنی تهیه شد. نمونه خاک در آون ۲۴ ساعت در حرارت ۱۰۵ درجه قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. سپس، ۴ ارلن مایر کاملاً سترون از آلودگی انتخاب و از نمونه خاک خشک در هر کدام ۳ گرم به دقت توزین و ریخته شد. محلول‌های استاندارد کادمیوم با غلظت‌های اولیه ۵، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم تهیه شدند و از هر محلول به یک ارلن مایر، ۵۰ میلی‌لیتر اضافه شد. بدین ترتیب امکان به تعادل رسیدن محلول با غلظت مشخص با خاک فراهم شد. پس از ۲۴ ساعت، سوپرانسیون از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد و غلظت محلول حاصل به منزله غلظت تعادلی با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد. مقدار جذب از طریق واحد وزن خاک از معادله ۳ به دست آمد.

$$x = \frac{(c_i - c_e) V}{w} \quad (3)$$

که در آن، C_i غلظت اولیه کادمیوم در محلول (میلی‌گرم بر لیتر)، C_e غلظت تعادلی کادمیوم در محلول (میلی‌گرم بر لیتر)، V حجم محلول تعادلی بر حسب لیتر، w وزن خاک بر حسب کیلوگرم و x مقدار کادمیوم جذب سطحی شده (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) است.

رویی نمونه برداشته، سپس روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه و خوب هم زده و پس از آن ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. محلول زردرنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داد و به قهوه‌ای روشن تمایل یافت. پس از ۳۰ دقیقه جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکن، میزان تغییرات قندها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی شد (Kochert, 1978).

اندازه‌گیری میزان کادمیوم: با در نظر گرفتن تیمارهای مورد مطالعه، ۴۸ نمونه گیاهی (ریشه و برگ) تهیه شد که پس از کدگذاری به آزمایشگاه انتقال داده شدند، سپس نمونه‌ها به منظور زدودن آلاینده‌های سطحی با آب شسته و کاملاً خشک شدند. نمونه‌های خشک شده با آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شدند. سپس، از نمونه‌های گیاهی ۲ گرم برگ و ۱ گرم ریشه به طور جداگانه در بالن ژوژه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با افزودن اسید نیتریک و اسید کلریدریک غلیظ با نسبت ۱:۳ به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند تا نمونه‌های گیاهی به خوبی در اسید حل شوند. پس از آن محلول حاصل ۱ گرم شد تا بخارهای اسیدی از محلول خارج شوند. سپس محلول مذکور از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد و حجم محلول با آب مقطر Deionized به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد تا برای تجزیه با دستگاه جذب اتمی آماده شود. در پایان کادمیوم با استفاده از دستگاه جذب اتمی novAA300 سنجش شد. داده‌های حاصل با نرم‌افزار مدل Spss (Version ۱۴) و با استفاده از آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Excel استفاده شد. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار صورت گرفت.

به منظور تعیین مقدار جذب کادمیوم از طریق خاک گلدان‌ها از معادلات هم حرارت جذب- مدل لانگمویر استفاده شد (Langmuir, 1996). این مدل، اولین بار به

غلهای کادمیوم میزان قندهای محلول در گیاه مورد افزایش یافت. این افزایش به ویژه در ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم معنی دار بود. میزان قندهای محلول در نمونه شاهد گیاه مورد برابر با حدود ۷۶ میلی گرم بر گرم ماده خشک بود که در اثر تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم به حدود ۱۴۰ میلی گرم بر گرم رسید. کادمیوم سبب افزایش تدریجی میزان قندهای محلول در گیاه کاج نیز شد، اما این افزایش معنی دار نبود (جدول ۱).

۴. نتایج

با افزایش غلهای کادمیوم میزان پرولین در کاج افزایش یافت (جدول ۱). کادمیوم به ویژه در غلهای ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر سبب افزایش معنی دار میزان پرولین در کاج شد. میزان پرولین در نمونه شاهد کاج برابر با حدود ۱۳ میلی گرم بر گرم ماده تر بود که بر اثر تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم به حدود ۲۵ میلی گرم بر گرم رسید. در غلهای ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر پرولین کاج نسبت به غلهای ۵۰۰ میلی گرم کاهش جزئی نشان داد. با افزایش

جدول ۱. مقادیر میانگین اثر سطوح مختلف کادمیوم در میزان پرولین، قندهای محلول، انباشت در برگ و ریشه در ۲ گیاه کاج و مورد است. حروف یکسان بیانگر نبود اختلاف با استفاده از آزمون دانکن است.

قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن خشک)		پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)		تیمار (ppm)
مورد	کاج	مورد	کاج	
۷۶±۶ ^a	۱۱۰±۹ ^a	۴/۹±۱ ^a	۱۳/۳±۱/۱ ^{ab}	شاهد
۷۷/۵±۷ ^a	۱۲۲±۸ ^a	۵/۷±۱/۲ ^a	۸/۷±۱/۵ ^{ab}	۲۰۰
۸۷/۹±۵/۵ ^a	۱۲۲±۸ ^a	۳/۷±۰/۹ ^a	۲۴/۸±۱/۸ ^b	۵۰۰
۱۴۰±۱۰ ^a	۱۳۲±۱۰ ^a	۵/۱±۱ ^a	۱۶/۸±۱/۶ ^b	۱۰۰۰
جذب در ریشه (ppm)		انباشت در برگ (ppm)		تیمار (ppm)
مورد	کاج	مورد	کاج	
۰/۴±۰/۰۱ ^a	۳/۳±۰/۵ ^a	۰/۴±۰/۰۱ ^a	۲/۱±۱ ^a	شاهد
۱۹/۸±۲/۵ ^a	۹۵/۸±۴/۵ ^a	۱۵/۸±۲/۵ ^a	۱۲/۵±۲/۵ ^a	۲۰۰
۴۲۸±۱۸/۵ ^a	۳۱۶±۱۶/۵ ^a	۴۱±۴/۵ ^a	۱۰/۴±۲/۱ ^b	۵۰۰
۵۹۴±۱۹/۵ ^a	۴۸۰±۱۶/۵ ^a	۱۷۸±۱۱/۵ ^a	۲۹/۷±۳/۱ ^b	۱۰۰۰

*حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهاست (میانگین هایی که حداقل ۱ حرف مشترک دارند، فاقد تفاوت معنی دار آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصدند).

همان‌گونه که از ضرایب معادله ۴ مشخص است حداکثر جذب کادمیوم روی سطوح خاک معادل ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک است. با توجه به وزن اتمی کادمیوم ۱۲۱/۴۱ گرم بر مول، ۸/۲۴ میلی‌مول بر کیلوگرم خاک است. با استفاده از معادله‌های تعادلی ۴ و ۵ می‌توان در غلظت‌های مختلف تعادلی مقدار جذب کادمیوم به سطوح ذرات خاک تحت آزمایش را برآورد کرد.

$$\frac{C}{x} = \frac{1}{0.693} + \frac{C}{1000} \quad (4)$$

$$x = \frac{1000(6/93E - 4)C}{1 + (6/93E - 4)C} \quad (5)$$

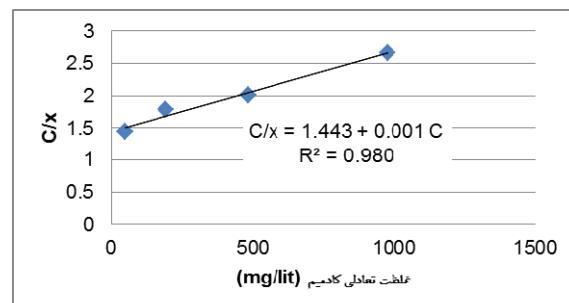
۵. بحث

نتایج این تحقیق نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین در کاج در غلظت ۵۰۰ دو برابر افزایش یافت. پرولین از مهم‌ترین اسیدهای آمینه در گیاهان است که در برابر انواع تنش‌ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و عناصر سنگین از گیاهان محافظت می‌کند. به طور کلی می‌توان ۳ نقش عمده را برای پرولین در مواجهه با عناصر سنگین قائل شد. پرولین می‌تواند با ترکیب‌شدن با کادمیوم و تشکیل کمپلکس پرولین-کادمیوم، کادمیوم سمی را به ترکیب غیرسمی تبدیل کند. Sun و همکاران (۲۰۰۷) تجمع پرولین در گیاه *Solanum nigrum* را به علت نقش این ماده در کیلات‌کردن کادمیوم و تشکیل ترکیب غیرسمی پرولین-کادمیوم می‌دانند. Sharma و همکاران (۱۹۹۸) نیز تجمع پرولین در محیط کشت حاوی کادمیوم را به علت نقش این ماده در کیلات‌کردن کادمیوم و تشکیل کمپلکس غیرسمی از پرولین-کادمیوم می‌دانند. پرولین همچنین می‌تواند به منزله ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. کادمیوم موجب تغییر در رژیم آبی گیاهان می‌شود. تغییر پتانسیل آب موجب تغییر در عملکرد آنزیم پیرولین-۵-کربوکسیل (که آنزیم مهم در سنتز پرولین است) و در نتیجه سبب تجمع پرولین می‌شود.

نتایج همچنین نشان دادند که میزان پرولین در کاج در تمام غلظت‌ها بیشتر از میزان پرولین در گیاه مورد بود، اما تنها در ۲ غلظت ۵۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm تفاوت‌ها معنی‌دار بود. در مقابل تفاوت معنی‌داری در میزان قindehای محلول در ۲ گیاه مشاهده نشد. جذب و انباشت کادمیوم در ریشه و برگ مورد به ویژه در غلظت‌های بالا بیشتر از گیاه کاج بود (جدول ۱).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که انباشتگی یون کادمیوم در ریشه و برگ‌های کاج با افزایش غلظت کادمیوم افزایش معنی‌داری یافت. میزان انباشتگی یون کادمیوم در ریشه کاج به مرتبه بیشتر از برگ‌ها بود. بالاترین میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه کاج در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۴۸۰ ppm بود که فقط ۶ (درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. نتایج مشابه در گیاه مورد به دست آمد. نتایج انباشتگی یون کادمیوم در ریشه و برگ‌های گیاه مورد نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم تجمع این عنصر افزایش یافت. بالاترین میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه مورد در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۵۹۳/۹ ppm بود که ۳۰ (درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد (جدول ۱).

بررسی نتایج آزمون هم حرارت‌های جذب لانگمویر نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط خاک تحت آزمایش تا حد ماقریم افزایش در جذب وجود دارد. شکل ۱ فرم خطی معادله لانگمویر و ضرایب آن را نشان می‌دهد.



شکل ۱. تعیین ضرایب معادله خطی لانگمویر

غذایی به طور معنی داری افزایش نشان داد. شریعت و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی اثر کادمیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژی در گیاه *Eucalyptus occidentalis* نشان دادند که میزان پرولین در این گیاهان افزایش یافت. نتایج این آزمایش همچنین نشان داد که تجمع پرولین به نوع گیاه بستگی دارد و در گیاه مورد، افزایش کادمیوم تأثیر معنی داری در میزان پرولین نداشت. این موضوع نشان داد که مورد از مکانیسم های متفاوتی در برابر کادمیوم استفاده می کند. در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر پرولین کاج نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی گرم کاهش جزئی نشان داد. این موضوع می تواند به تأثیر سمیت کادمیوم در غلظت های بالا بر متابولیسم پروتئین ها مربوط باشد. مشابه این موضوع در مطالعه اثر کادمیوم در تجمع میزان پرولین در ۲ گیاه هویچ و کلم نشان دادند که با افزایش این عنصر در محیط کشت میزان پرولین افزایش قابل ملاحظه ای یافت، اما افزایش غلظت کادمیوم بیشتر از ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک، کاهش نشان می دهد (Chen, et al., 2003).

با افزایش غلظت کادمیوم میزان قندهای محلول در گیاه مورد افزایش یافت. کادمیوم با کاهش انتقال آب به برگ ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ به بروز تغییرات فراساختاری اندامک های سلول و تغییر در رفتار آنزیم های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند منجر می شود. با کاهش انتقال آب به برگ ها به علت تجمع کادمیوم در سلول ها محتوای قندهای محلول در گیاه افزایش می یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با کادمیوم است. علاوه بر نقش قندهای محلول در تنظیم فشار اسمزی تصور می شود با افزایش قندهای حل شونده، گیاه بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد (Verma and Duby, 2001). مشابه این نتایج در بررسی اثر کادمیوم در قندهای محلول و آنزیم های

.(Delauney and Verma, 1993 و Ali, et al., 2001) Sharma (۲۰۰۲) و Pandy نشان دادند که نیکل، کبالت و کادمیوم سبب تجمع پرولین می شوند و پیشنهاد کردند که افزایش پرولین با تغییرات رژیم آبی گیاه مورد مطالعه مرتبط است. Schat و همکاران (۱۹۹۷) نیز تجمع پرولین در گیاه *Silene vulgaris* را به کمبود آب که در نتیجه اثر عناصر سنگین حاصل می شود نسبت داده اند. پرولین می تواند در حکم آنتی اکسیدان عمل کند و با ممانعت از پراکسیداسیون لبید خطر رادیکال های آزاد را کاهش دهد و Mehta and Gaur, 1999) سبب حفظ تمامیت غشاها شود (Alia and Saradhi, 1991 و). مشابه این نتایج روی گیاه *Groenlandia densa* نشان داد که میزان پرولین با افزایش Parlak and غلظت کادمیوم به طور تدریجی افزایش یافت (Yilmaz, 2011). بیشترین میزان پرولین در غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر کادمیوم به دست آمد. Dinakar و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تحت تأثیر کادمیوم میزان پرولین در ریشه و برگ در گیاه *Arachis hypogaea* افزایش یافت. این محققان همچنین نشان دادند که زمان تأثیر کادمیوم روی گیاه نیز سبب افزایش میزان پرولین شد به طوری که بالاترین میزان پرولین در غلظت ۱۰۰ میکرومول بر لیتر کادمیوم در ۲۵ روز کاشت به میزان ۷۰۰ میلی گرم بر گرم وزن تر به دست آمد. نتایج مشابه در مطالعه Balestrasse و همکاران (۲۰۰۵) به دست آمد. این محققان نشان دادند که میزان پرولین در گیاه سویا (Soya bean) با افزایش غلظت کادمیوم در محیط کشت افزایش یافت. تجمع پرولین تحت تأثیر کادمیوم در چند گیاه دیگر نیز نشان داده شده است (Alia and Saradhi, 1991). تجمع پرولین در لوپیا Zengin and Munzuroglu,) (Phaseolus vulgaris) نیز تحت تأثیر کادمیوم گزارش شده است. کادمیوم (2005 همچنین سبب افزایش میزان پرولین در گیاه Atriplex halimus شد (Nedjimi and Daoud, 2009). میزان پرولین در ریشه و ساقه این گیاه با افزایش میزان کادمیوم در ماده

اندکی جذب گیاه می‌شوند. قسمت اعظم این یون‌ها به طور فیزیکی جذب دیواره سلولی می‌شوند. در دیواره سلولی بخشی که به طور منفی باردار است و به نام سایت Coo^- نامیده می‌شود مسئول جذب سطحی در دیواره سلولی است. یون‌هایی که به این قسمت می‌چسبند نمی‌توانند وارد سلول و به قسمت‌های هوایی گیاه منتقل شوند. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان کادمیوم در ریشه گیاهان مورد مطالعه تجمع آن‌ها در واکوئل‌هاست. تجمع این عناصر در واکوئل‌های سلولی مانع انتقال آن‌ها به قسمت‌های هوایی می‌شود و به همین علت مقدار این عنصر در ریشه به مراتب بیشتر از اندام‌های هوایی است. در هر صورت، جذب عناصر سنگین در واکوئل‌ها و به ویژه در دیواره سلولی برای گیاه از سمیت بسیار کمتری برخوردار است. حالتی که احتمالاً برای گیاهان مورد مطالعه حاضر اتفاق افتاده است. در بررسی تحمل گیاه *Thlaspi caerulescens* دیواره سلولی از مهم‌ترین مکان‌های تجمع یون کادمیوم به شمار می‌روند. بنابراین، در صورتی که شرایط رویش برای این گیاهان فراهم باشد می‌توان از آن‌ها در خاک‌های آلوده *Wojcik, et al.* (2005) به این عنصر برای امر گیاه تثبیتی استفاده کرد (2009). مشابه مطالعه حاضر در بررسی اثر کادمیوم در گیاه *Atriplex halimus* نشان داده شد که با افزایش این عنصر تجمع آن در ریشه و ساقه گیاه افزایش می‌یابد (*Nedjimi and Daoud, 2009*). در بررسی اثر کادمیوم روی گیاه *Lepidium Sativum* نشان داده شد که با افزایش غلظت کادمیوم انباستگی این عنصر در ریشه و برگ‌ها افزایش یافت به طوری که میزان آن در ریشه در غلظت $100 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم خاک}$ به 700 ppm رسید (*Gill, et al., 2012*). در بررسی اثر کادمیوم در گونه *Solanum nigrum* نشان داده شد که افزایش غلظت کادمیوم سبب افزایش تجمع این عنصر در ریشه و ساقه آن شد (*Sun, et al., 2007*). در مطالعات *Fan* و همکاران (2011) در

متabolیسمی گیاه برنج نشان داده شد که کادمیوم سبب افزایش قندهای محلول شد (*Verma and Duby, 2001*). افزایش میزان قندهای محلول می‌تواند به علت اثر عناصر سنگین در کاهش استفاده از قندهای محلول برای رشد گیاه باشد (*Moya, et al., 1993*). همچنین، این محققان افزودند که عناصر سنگین می‌توانند سبب کاهش ثبیت CO_2 و کاهش قندها شوند، اما اثر عامل اول خیلی بیشتر از تأثیر منفی آن است، لذا قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابند. غلظت‌های بالای عناصر سنگین سبب بی‌نظمی در متابولیسم مواد غذایی به ویژه بی‌تعادلی بین پروتئین‌ها و قندها می‌شوند (*Costa and Spitz, 1997*). افزایش نشاسته و قند در برگ‌های گیاهان *Betula*, *Picea* و *Pinus* در اثر عناصر سنگین نشان‌دهنده اثر این عناصر در ممانعت از هیدرولیز این مواد است (*Bishnoi, et al., 1993*). مشابه نتایج به دست آمده در خصوص گیاه مورد، سلطانی و همکاران (1385) در بررسی اثر کادمیوم در مقدار رنگیزه‌های فتوستزی، قند‌ها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا نشان دادند که با افزایش کادمیوم میزان قندهای محلول افزایش یافت. همچنین، نتایج مشابهی از سوی کریمی و نوجوان (1385) در بررسی اثر کادمیوم کلرید روی دانه‌های عدس به دست آمد.

انباستگی یون کادمیوم در ریشه کاج و مورد با افزایش غلظت کادمیوم افزایش معنی‌داری یافت به طوری که در غلظت $1000 \text{ میلی گرم بر لیتر}$ میزان انباست آن در ریشه مورد برابر با $593/9 \text{ ppm}$ و در گیاه کاج برابر با حدود 480 ppm اندازه‌گیری شد. این میزان انباست کادمیوم در ریشه گیاهان تحت مطالعه شایان توجه است. در گیاهان، اصولاً انتقال یون‌ها از طریق غشای سلولی از طریق پروتئین‌هایی به نام ترانسپورترها میانجی‌گری می‌شود. این ترانسپورترها (حمل‌کننده‌های یونی) انتقال‌دهنده یون خاص‌اند و به صورت اختصاصی عمل می‌کنند. از کل یون‌هایی که در اطراف ریشه قرار می‌گیرند فقط قسمت

بیشترین میزان انتقال کادمیوم نیز در گیاه مورد به میزان $177/97 \text{ ppm}$ مشاهده شد. طبق تعریف یک بیش انباست کننده باید حداقل قادر به انباست 100 ppm یا $100 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم} (0/01 \text{ درصد وزن خشک})$ کادمیوم و برخی فلزات رديابی شده دیگر، $1000 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم} (0/01 \text{ وزن خشک})$ کیالت، مس، کروم، نیکل و سرب و $10000 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم} (1 \text{ درصد وزن خشک})$ منگنز و نیکل باشد (Wantanable, 1997). همچنین، بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد گیاه مورد با توجه به انتقال و انباست حدود $177 \text{ میلی گرم بر کیلو گرم}$ کادمیوم می‌تواند به منزله گونه گیاه استخراجی معرفی و در خاک‌های آلوده به منزله گونه گیاه استخراجی استفاده شود.

بررسی اثر کادمیوم روی گونه *Swietenia macrophylla* Nikolic و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر کادمیوم در گونه‌های هیرید تبریزی، مطالعه علی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی تأثیر بهبود شرایط خاک در پاسخ‌های انباست فلز کادمیوم در نهال‌های یک‌ساله صنوبر (*Populus alba*) Kadukova و همکاران (۲۰۰۶)، مطالعات (*Nerium oleander*) Kovacevic و همکاران (۱۹۹۹) روى گونه Linger و *Triticum aestivum* و *Cannabis sativa* Ekmekci و *Pandy* Sharma (۲۰۰۵) روى ذرت، (۲۰۰۲) روى ذرت، (۲۰۰۸) روى *Cabbage* نتایج مشابهی به دست آمد. در تحقیق حاضر بیشترین نسبت انتقال کادمیوم از ریشه به برگ در گیاه مورد به میزان $30 \text{ درصد مشاهده شد.}$

منابع

- آفتاب طلب، ن. ۱۳۸۶. «بررسی توان پالایش دو عنصر سمی کادمیوم و سرب به وسیله نهال‌های دو ساله دو گونه چنار و سرو سیمین»، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۳۰ ص. ۱۳۸۶.
- جزیره‌ای، م. ۱۳۸۴. جنگل‌کاری در خشک بوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- خداکرمی، ی. ۱۳۸۶. «ارزیابی توان زیست‌پالایی خاک در دو گونه بلوط ایرانی و بنه، (*Quercus brantii* & *Pistacia atlantica*)»، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۴۶ ص.
- سلطانی، ف؛ قربانی، م؛ منوچهری کلاتری، خ. ۱۳۸۵. «اثر کادمیوم در مقدار رنگیزه‌های فتوستتری، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا سلطانی، (*Brassica napus L.*)». مجله زیست‌شناسی ایران، ۲: ۱۳۶-۱۴۵.
- شریعت، آ؛ عصاره، م؛ ح؛ قمری زارع، ع. ۱۳۸۹. «اثر کادمیوم در برخی پارامترهای فیزیولوژی در *Eucalyptus occidentalis*»، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک، ۵۳: ۱۴۵-۱۵۳.
- علی‌زاده، س.م؛ زاهدی‌امیری، ق، ثواقبی‌فیروز‌آبادی، غ؛ اعتماد، و. ۱۳۹۰. «تأثیر بهبود شرایط خاک در پاسخ‌های انباست فلز کادمیوم در نهال‌های یک‌ساله صنوبر (*Populus alba L.*)». مجله جنگل ایران، انجمان جنگل‌بانی ایران، ۳: ۳۵۵-۳۶۶.
- Alia, S.P.P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. Journal of Plant Physiology 138: 504-508.
- Alia, G., Srivastava, P.S. and Iobal, M. 2001. Responses of bacopa moniera cultures to cadmium toxicity. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 66: 342-349.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant soil 39: 205-207.
- Balestrasse, K.B., Gallego, S.M., Benavides, M.P. and Tomaro, M.L. 2005. Polyamines and proline are affected by cadmium stress in nodules and roots of soybean plants. Plant Soil 270: 343-353.

Baryla, A., Carrier, P., Frank, F., Coulomb, C., Sahut, C. and Havaux, M. 2001. Leaf chlorosis oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthetic and growth. *Planta* 212: 696-709.

Bishnoi, N.R., Dua, A., Gupta, V.K. and Sawhney, S.K. 1993. Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 47 (1): 47-57.

Chen, Y.X., He, Y.F., Luo, Y.M., Yu, Y.L., Lin, Q. and Wong, M.H. 2003. Influence of cadmium on soluble carbohydrate, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Science* 128: 131-140.

Costa, G., Spitz, E. 1997. Influence of cadmium on soluble carbohydrate, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Science*. 128, 131-140.

Das, P., Samantaray, S. and Rout, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98: 29–36.

Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 41: 215-223.

Dinakar, N., Nagajyothi, P.C., Suresh, S., Udaykiran, Y. and Damodharam, T. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlines. *Journal of Environmental Sciences* 20: 199-206.

Doumett, S., Lamperi, L., Checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzzelli G. and Del bubba. M. 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: influence of different complexing agents. *Chemosphere* 72: 1481-1490.

Ekmekci, Y., Tanyolac, D. and Ayhan, B. 2008. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Journal of Plant Physiology*: 165: 600-611.

Fan, K.C., Hsi, H.C., Cheng, C.W., Lee, H.L. and Hseu, Z.Y. 2011. Cadmium accumulation and tolerance of mahogany (*Swietenia macrophylla*) seedlings for phytoextraction applications. *Journal of Environmental Management* 92: 2818-2822.

Farago, M.E. and Mullen, W.A. 1979. Plants which accumulate metals. Part IV. A possible copper-proline complex from the roots of *Armeria maritima*, *Inorganica Chimica Acta* 32:93–94.

Gill, S.S., Khan, N.A. and Tuteja, N. 2012. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it up regulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *Plant Science* 182: 112-120.

Goldenberg, S. 1995. Adsorption Models Incorporated into Chemical Equilibrium Models. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. Chemical Equilibrium and Reaction Models, SSSA Special Publication 42.75

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. *Plant Physiology* 38:629-638.

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S. 2009. Heavy metal toxicity: effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production* 3: 1735-8043.

Kadukova, J., Manousaki, E. and Kalogerakis, N. 2006. Lead and cadmium accumulation from contaminated soils by *Nerium oleander*. *Acta Metallurgica Slovaca* 12: 181-187.

- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: hand book of physiological method. (Eds. Helebust, J.A. and Craig, J.S.) : 56-97. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Kovacevic, G., Kastori, R. and Merkulov, L.J. 1999. Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel. *Biologia Plantarum* 42: 119-123.
- Langmuir, D. 1996. Aqueous environmental geochemistry. New Jersey Prentice Hall. 600p.
- Li, Q., Chai, L. and Qin, W. 2012. Cadmium(II) adsorption on esterified spent grain: Equilibrium modeling and possible mechanisms, *Chemical Engineering Journal* 197:173–180.
- Li, Y., Gou, X., Wang, G., Zhang, Q., Su, Q. and Xiao, G. 2008. Heavy metal contamination and source in arid agricultural soil in central Gansu Province, China, *Journal of Environmental Sciences* 20: 607–612.
- Linger, P., Ostwald, A. and Haensler, J. 2005. *Cannabis sativa* growing on heavy metal contaminated soil: growth, cadmium uptake and photosynthesis. *Biologia Plantarum* 49: 567-576.
- McGrath, S.P., Zhao, F.J. and Lombi, E. 2002. Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *Advance in Agronomy* 75:1– 56.
- Mehta, S.K., and Gaur J.P. 1999. Heavy metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytology* 143: 253-259.
- Mejare, M., Bulow, L. 2001. Metal binding proteins and peptides in bioremediation and hytoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology* 19, 67-73.
- Moya J.L., Ros, R. and Picazo, I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research* 36: 75–80.
- Nedjimi, B. and Daoud, Y. 2009. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora* 204: 316-324.
- Nikolic, N., Kojic, D., Pilipovic, A., Pajevic, S., Krstic, B., Borisev, M. and Orlovic, S. 2008. Responses of hybrid poplar to cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation, and antioxidant enzyme activity. *Acta Biological Cracoviensis Series Botanica* 50: 95-103.
- Pandey, N. and Sharma, C.P. 2002. Effect of heavy metals Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and matabolism of cabbage. *Plant Science* 163: 753-758.
- Pivetz, B.E. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous sites, *Ground Water Issue*, EPA/540/S-01/500. 59 pp.
- Pulford, I.D. and Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by tree- a review, *Environment International* 29: 529-540.
- Sanita, L. and Gabbielli, R. 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105-130.
- Schat, H., Sharma, S. and Vooijs, R. 1997. Heavy metal induced accumulation of free proline in a metal tolerant and non tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 101: 477-482.
- Shanti, S.S. and Dietz, K.J. 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany* 57: 711-726.

Sharma, S.S., Schat, H. and Vooijs, R. 1998. In vitro alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline. *Phytochemistry* 49: 1531-1535.

Sun, Q., Ye, Z.H., Wang, X.R., Wong, M.H. 2007. Cadmium hyperaccumulation leads to an increase of glutathione rather than phytochelatins in the cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *J. Plant Physiology*, 164, 1489–1498.

Sheoran, I.S., Singal, H.R. and Singal, R. 1990. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Photosynthetic Research* 23: 345-351.

Verma, S. and Duby, R.S. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 1: 117-123.

Wantanable, M.A. 1997. Phytoremediation on the brink of commercialization, *Environmental Science and Technology* 31: 182–186.

Wojcik, M., Vangronsveld, J. and Tukiendorf, A. 2005. Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. Growth parameters, metal accumulation and phytochelatin synthesis in response to cadmium. *Environmental and Experimental Botany* 53: 151-161.

Xu, J., Yin, H.X., Li, Y.L. and Liu, X.J. 2010. Nitric oxide is associated with long-term zinc tolerance in *Solanum nigrum*. *Plant Physiology* 154: 1319–1334.

Yilmaz, D.D. and Parlak, K.U. 2011. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. *Ecological Indicators* 11: 417-423.

Zengin, F.K. and Munzuroglu, O. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biological Cracoviensia Series Botanica* 47(2): 157-164.

Zhang, G., Fukami, M. and 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.