

مقایسه غلظت سرب در دو گیاه سروخمره‌ای (*Thuja orientalis*) و زیتون (*Olea europaea*) به منظور کاربرد در فناوری گیاه‌پالایی

اصغر مصلح آرانی^{۱*}، مهری خسروی^۲، حمید رضا عظیم‌زاده^۱، حمید سودایی‌زاده^۱، اصغر سپه‌وند^۳

۱- دانشیار دانشکده منابع طبیعی، گروه محیط زیست، دانشگاه یزد

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۳- دکترای جنگلداری، اداره کل منابع طبیعی استان لرستان

(تاریخ دریافت ۹۲/۰۱/۲۴-تاریخ پذیرش ۹۶/۰۸/۰۶)

چکیده:

پژوهشی با هدف بررسی تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف سرب (۰ (شاهد)، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر جذب آن در دو گیاه سرو (*Thuja orientalis*) و زیتون (*Olea europaea*) اجرا گردید. نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت سرب غلظت این عنصر در دو گیاه افزایش یافت. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه زیتون در غلظت ۱۰۰۰ حدود ۱۰۱ mg/kg بود که ۳۸ mg/kg (۳۷/۶ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه سرو در غلظت ۵۰۰ حدود ۲۳۵ mg/kg بود که ۳۰ (۱۲/۷ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. همچنین میزان پرولین در گیاه سرو در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به طور معنی‌داری بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و شاهد بود. پرولین و قندهای محلول در گیاه زیتون فقط در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب افزایش یافت. با افزایش غلظت سرب میزان قندهای محلول در گیاه سرو نیز افزایش نشان داد و بیشترین میزان قند در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. طی آزمایش مجزا بر روی نمونه خاک به کار رفته در گلدان‌های کشت زیتون و سرو، ضرایب معادله هم حرارت جذب لانگمویر به دست آمد. نتایج این آزمون نشان داد در شرایط خاکی این آزمایش حداکثر مقدار جذب سرب ۱۰۰۰ میلی‌گرم در یک کیلوگرم خاک است. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که دو گیاه مورد مطالعه تحت شرایط این آزمایش قادر به رشد در خاک آلوده به سرب بودند و در این میان عملکرد سرو بهتر بود. انجام تحقیقات بیشتر توصیه می‌شود.

کلید واژگان: پرولین، سرب، سرو، زیتون، گیاه‌پالایی.

۱. مقدمه

آلودگی‌های ناشی از فلزات سنگین به علت افزایش فعالیت‌های انسانی از اواخر قرن ۱۹ و اوایل قرن ۲۰، به طور وسیعی در دنیا افزایش داشته است. در بین فلزات سنگین سرب، کادمیوم و جیوه از مهم‌ترین آلوده‌کننده‌ها هستند که در اثر فعالیت‌های انسانی تولید می‌شوند (Yang et al., 1996). سرب بیشتر از طریق صنایع ساخت باتری‌های سربی، افزودنی‌های رنگ و بنزین، حشره‌کش‌ها، کودهای شیمیایی، آگروز اتومبیل و لحیم‌کاری وارد محیط زیست می‌گردد (Eick et al., 1999). سرب یکی از فلزات سمی برای انسان و همچنین جزو فلزات غیر ضروری برای گیاهان است که عملکرد زیستی شناخته شده‌ای ندارد؛ ولی به علت انحلال پذیری این عنصر در آب، به راحتی توسط ریشه گیاه جذب گیاه می‌گردد (Kim et al., 2002) و از این طریق رشد و متابولیسم گیاهان با افزایش این فلزات در محیط تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Sharma and Dubey, 2004). یکی از آثار سمیت سرب به علت تشابه ساختار یونی با کلسیم بوده و به همین علت سرب بسیاری از جنبه‌های رفتاری Ca^{+2} را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند. در گیاهان آثار سمیت با سرب معمولا در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکرو گرم بر گرم در برگ ظاهر شده و به کاهش سنتز کلروفیل و کاهش رشد رویشی منجر می‌شود (Ruley et al., 2004). تحقیقات نشان می‌دهد که غلظت برخی از یون‌ها (As, Cd, Pb) در خاک حتی به ۱۰۰۰ برابر بیشتر از حد طبیعی می‌رسد (Kabata-Pendias, 2001). چنین شرایطی موجب مسمومیت گیاه، کاهش رشد و میزان

محصول، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری مانند آهن و کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (Pallavi and Rama, 2005). مهم‌ترین دلیل اثر تخریبی سرب این است که این عنصر باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و پروکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. این رادیکال‌ها در موجودات با متابولیسم‌های هوازی از طریق اندامک‌های انتقال دهنده الکترون مانند میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و غشای پلاسمایی تولید می‌شود. این رادیکال‌ها به سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش کرده و موجب تخریب سلول‌ها می‌گردند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها و غیره) و غیر آنزیمی (مانند گلوکاتایون، اسکورات، کاروتنوئیدهای توکوفرار و همچنین پرولین) استفاده می‌کند (Shanti and Dietz, 2006). در بین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی پرولین آنتی‌اکسیدانی است که پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد بوده و با اتصال به سرب و تشکیل کمپلکس سرب-پرولین مانع سمیت این عنصر می‌گردد (Alia et al., 2001, Farago and Mullen, 1979). اغلب مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر فیزیولوژیکی سرب در گیاهان مربوط به گیاهان علوفه‌ای و یا زراعی است. به عنوان مثال Cherati Araei و Khanlarian Khatiri (۲۰۰۸) در بررسی تأثیر سرب در دو رقم کلزا نشان دادند که مقدار پرولین ریشه در هر دو رقم نسبت به شاهد با افزایش غلظت سرب، افزایش معنی‌داری یافته است. Lamhamdi et al., (2011) در بررسی اثر سرب بر روی رشد نهالهای گندم نشان دادند که افزایش

غلظت سرب باعث تجمع پرولین در برگ و ریشه‌های این گیاه گردید. سرب همچنین به طور معنی‌داری باعث افزایش تجمع پرولین در گیاه لوبیا گردید (Zengin & Munzuroglu, 2005).

در مورد گونه‌های درختی (۱۳۸۸)، Khodakarami *et al* در بررسی مقدار جذب فلز سرب در اندامهای مختلف نهالهای یکساله دو گونه بلوط ایرانی و بنه نشان دادند که دو گونه جنگلی بنه و بلوط ایرانی در ارتباط با انباشت آلاینده سرب در رده گیاهان ابرجاذب قرار دارند. با توجه به میانگین‌های جذب اندامی برای برگ مرداد و مهر، گونه بنه دارای بیشترین مقدار جذب برگی بود، درحالی که بیشترین مقدار جذب ریشه‌ای مربوط به گونه بلوط ایرانی بود.

از طرف دیگر گونه‌های مختلف گیاهی می‌توانند به عنوان فیلترهای زیستی نقش مهمی را در حذف آلودگی‌های محیطی به عهده داشته باشند. برخی از عناصر سنگین مانند سرب و کادمیم می‌توانند جذب گیاه شده و در برگ و یا شاخه‌ها تجمع یابند. اطلاع از این امر کمک شایانی به مدیریت طرح‌های گیاه پالایی در مناطق آلوده می‌نمایند (Aftabtalab, 2008 و Khodakarami, 2008). این روش رفع آلودگی، باعث حفظ فعالیت زیستی و ساختار فیزیکی خاک شده و به طور چشم‌گیری ارزان است (Pulford, 2003). همچنین به دلیل هماهنگ بودن با محیط زیست و داشتن کمترین آسیب، بیشترین توجه را به خود معطوف کرده است (Aftabtalab, 2008). این تحقیق ضمن بررسی برخی مکانیسم‌های تحمل گونه‌های زیتون و سرو خمره‌ای به سرب، میزان غلظت سرب را در این گیاهان برای تعیین گونه

مناسب‌تر جهت گیاه پالایی مورد مقایسه قرار می‌دهد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. گیاهان مورد مطالعه

سروخمره‌ای با نام علمی *Thuja orientalis* متعلق به خانواده Cupressaceae است. سروخمره‌ای درختچه‌ای همیشه سبز با رشد متوسط و طالب آب و هوای معتدل تا سرد و خاک عمیق و لوم با نیاز آبی متوسط است و در مکان آفتابی رویش می‌نماید. ازدیاد آن به وسیله‌ی بذر و در خاک سبک امکان‌پذیر می‌باشد و بسیار مناسب پارک‌ها و میادین است (Abdipur, 2004).

زیتون (رقم زرد) با نام علمی *Olea europaea* متعلق به خانواده Oleaceae است. زیتون درختی است همیشه سبز که در خاک‌های لومی و شنی و در مکان‌های آفتاب‌گیر رشد می‌نماید و بسیار مقاوم به خشکی است و در آب و هوای مرطوب تا معتدل رشد می‌کند. ازدیاد آن معمولاً از طریق قلمه‌زدن یا خوابانیدن شاخه ارجح است (Abdipur, 2004). این درخت در حوزه‌ی دریای مدیترانه، شمال آفریقا، جنوب شرقی آسیا، شمال تا جنوب چین، اسکاتلند و شرق استرالیا پراکندگی دارد. کاشت زیتون به علت تحمل به شوری، خشکی و همیشه سبز بودن، در سال‌های اخیر در فضای سبز مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان یک درخت سایه‌دار در محوطه‌های کارگاهی، در حاشیه و کنار جاده‌های خارج از شهر و در اطراف اتوبان‌ها نیز توصیه می‌شود (Simkeshzadeh *et al.*, 2010).

۲,۲. روش تحقیق

نهال‌های دو ساله سرو و زیتون که در مخلوط رس، ماسه و کود حیوانی به نسبت مساوی کشت شده بودند از نهالستان شهرستان خرم‌آباد تهیه شد. نهال‌های هم اندازه انتخاب و در یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار قرار داده شد. گلدانها در نور یکسان و در دمای شبانه‌روزی فصل تابستان در نهالستان شهرستان خرم‌آباد و در فضای باز قرار داده شدند. بدلیل جذب بالای سرب به خاک (Khodaverdiloo *et al.*, 2001) و برای داشتن یک عصاره همگن با غلظت ثابت از سرب در محیط ریشه، برای آلوده کردن خاک از محلولهای سرب استفاده شد. با توجه به مشخص بودن دوره رشد در تیمارهای مختلف و انجام آبیاری تا خروج آب از زیر گلدانها فرض بر این است که فاز جامد و فاز محلول در طول دوره به تعادل می‌رسد. مقداری از عناصر سنگین در خاک تثبیت می‌شوند. که این حالت در آبیاریهای اولیه اتفاق می‌افتد. در آبیاریهای بعدی غلظت استفاده شده برای ریشه گیاه ثابت باقی می‌ماند. مقدار عنصر سنگین جذب شده در خاک قابل محاسبه است. به منظور تعیین حداکثر جذب سرب توسط خاک در تیمارهای مختلف، طی آزمایش مجزا بر روی نمونه خاک به کار رفته در گلدانهای کشت گیاهان مورد مطالعه، ضرایب معادله هم‌حرارت جذب لانگمویر بدست آمد. برای تهیه تیمار سرب از کلرید سرب استفاده شد (کلرید به‌طور عمده از پروفیل خاک گلدان آبخوبی شده و خارج می‌شود، لذا نقش موثری در محیط خاک ایفا نمی‌نمایند) و غلظت‌های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از مواد فوق ساخته شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. از این غلظتها استفاده شد تا دامنه ای از غلظتهای کم تا

خیلی زیاد باشد (Zou *et al.*, 2011). گلدانها ۳ بار در هفته و هر بار با ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلولهای فوق در طول ۷۰ روز از اوایل فصل تابستان مورد آبیاری قرار گرفتند.

در اواسط شهریور ماه نمونه‌های برگ جهت اندازه‌گیری مقدار پرولین و قندهای محلول نمونه‌برداری شد. جهت اندازه‌گیری انباشت عناصر سنگین، گیاهان به‌طور کامل از خاک خارج و به منظور زدودن آلاینده‌های سطحی با آب شستشو داده شده و کاملاً خشک گردیدند.

۲,۳. اندازه‌گیری مقدار پرولین

مقدار ۵/۰ گرم از برگ گیاهان را توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفو سالیسیلیک (ساخت مرک آلمان) ساییده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. آن گاه ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت قرار داده شد، سپس لوله‌ها در حمام یخ به مدت نیم ساعت قرار گرفتند. آنگاه به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و آن‌ها را خوب تکان داده و میزان جذب لایه رنگی فوقانی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (Bates *et al.*, 1973).

۲,۴. اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

برای سنجش قندهای محلول، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (برگ) اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت یک هفته، ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی

(Version ۱۴) و با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan استفاده شد. محاسبه احتمال معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P < 0.05$ انجام شد. رسم نمودارها به کمک نرم افزار Excel صورت گرفت.

به منظور تعیین مقدار جذب سرب توسط خاک گلدان‌ها از معادلات هم حرارت جذب، مدل لانگمویر استفاده شد. این مدل برای اولین بار به منظور تشریح جذب گازها روی سطوح جامد ارائه شد و فرمول کلی آن در معادله (۱) نشان داده شده است.

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

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

که در آن x_m حداکثر جذب سرب در واحد وزن خاک، K بیان کننده انرژی پیوندی سطح جاذب، C غلظت تعادلی سرب در محلول خاک و X مقدار سرب جذب شده در واحد وزن خاک می‌باشد. به منظور کاربردی نمودن این معادله و تبدیل آن به فرم خطی معادله (۱) به صورت معادله (۲) قابل دسترسی است (Goldberg, 1995).

برای تعیین ضرایب معادله هم حرارت جذب لانگمویر، ابتدا نمونه همگنی از خاک مورد استفاده در گلدان-های کاج و مورد تهیه شد. نمونه خاک در آون به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۱۰۵ درجه قرار داده شد تا کاملاً خشک شود. سپس چهار ارلن مایر کاملاً سترون از آلودگی انتخاب و از نمونه خاک خشک در هر کدام سه گرم به دقت توزین و ریخته شد. محلول-های استاندارد سرب با غلظت‌های اولیه ۵، ۲۰۰ و

نمونه برداشته و سپس بر روی آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده و خوب هم زده و پس از آن ۵ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. محلول زرد رنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داده و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از ۳۰ دقیقه جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز، میزان تغییرات قندها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید (Kochret, 1978).

۲.۵. اندازه گیری میزان غلظت سرب

با در نظر گرفتن تیمارهای مورد مطالعه، تعداد ۴۸ نمونه گیاهی (ریشه و برگ) تهیه شد که پس از کد گذاری به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس نمونه‌ها به منظور زدودن آلاینده‌های سطحی با آب مقطر شستشو داده شد و کاملاً خشک گردیدند. نمونه‌های خشک شده با آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. سپس ۲ گرم برگ و ۱ گرم ریشه از هر نمونه-های گیاهی به طور جداگانه در بالن ژوژه‌های ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد و با اضافه نمودن 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 را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج گردد، سپس محلول مذکور را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده و حجم محلول را با آب مقطر Deionized به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده تا برای تجزیه با دستگاه جذب اتمی آماده شوند. در پایان غلظت سرب با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل novAA300) ساخت کشور آلمان مورد سنجش قرار گرفتند. داده‌های حاصل با نرم افزار Spss

۵۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه و از هر محلول به یک ارلن مایر، ۵۰ میلی لیتر اضافه شد. بدین ترتیب امکان به تعادل رسیدن محلول با غلظت مشخص با خاک فراهم شد. پس از ۲۴ ساعت، سوسپانسیون از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد و غلظت محلول حاصل به عنوان غلظت تعادلی با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد. مقدار جذب توسط واحد وزن خاک از معادله ۳ به دست آمد.

$$x = \frac{(C_i - C_e) V}{w} \quad (3)$$

غلظت اولیه سرب در محلول (میلی- C_i که در آن: غلظت تعادلی سرب در محلول C_e گرم بر لیتر)، حجم محلول تعادلی برحسب V (میلی گرم بر لیتر)، مقدار سرب x وزن خاک برحسب کیلوگرم و w لیتر، جذب سطحی شده (میلی گرم بر کیلوگرم خاک) است.

۳. نتایج

نتایج تجزیه واریانس اثر سرب بر قند، پرولین، و غلظت سرب در برگ و ریشه در گیاه سرو و زیتون در جدول ۱ نشان داده شده است. اثر گونه، غلظت و اثر متقابل گونه*غلظت در تمام شاخص های اندازه گیری شده معنی دار بود. معنی دار بودن اثر متقابل گونه*غلظت نشان می دهد که روند تغییرات این شاخص ها در دو گونه سرو و زیتون مشابه نیست.

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت سرب در برگ سرو در دو غلظت 200 mg/kg و 500 بطور معنی داری بیشتر از غلظت سرب در گیاه زیتون بود، در حالی که در 1000 mg/kg غلظت سرب در گیاه زیتون بیشتر از سرو بود. جذب سرب در ریشه سرو (به جز در غلظت 200 mg/kg) به طور معنی داری بیشتر از جذب سرب در گیاه زیتون بود (جدول ۲). نتایج غلظت سرب در ریشه و برگ های گیاه زیتون

نشان داد که با افزایش غلظت سرب غلظت این عنصر افزایش یافت (شکل های ۴ و ۳). بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه زیتون در غلظت ۱۰۰۰ حدود $37/6 \text{ mg/kg}$ بود که فقط 38 mg/kg (۳۷/۶ درصد) آن به برگ ها منتقل شد. نتایج غلظت سرب در ریشه و برگ های گیاه سرو نشان داد که با افزایش غلظت سرب غلظت این عنصر افزایش یافت (شکل-های ۴ و ۳) اما غلظت سرب در ریشه در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کاهش و در برگ فقط در غلظت ۲۰۰ افزایش نشان داد. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه سرو در غلظت ۵۰۰ حدود 235 mg/kg بود که فقط 30 mg/kg (۱۲/۷ درصد) آن به برگ ها منتقل شد.

با افزایش غلظت سرب میزان پرولین در گیاه سرو افزایش یافت. میزان پرولین در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به طور معنی داری بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و شاهد بود. سرب فقط در غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به طور معنی داری پرولین در گیاه زیتون را افزایش داشت. با افزایش غلظت سرب میزان قندهای محلول در گیاه سرو افزایش نشان داد. بیشترین میزان قند در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد. افزایش غلظت سرب تا غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش قندهای محلول در گیاه زیتون شد ولی در غلظت های بالاتر از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان قندهای محلول تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نداشت. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سرب بر میزان پرولین، قندهای محلول، غلظت در برگ و ریشه در دو گیاه سرو و زیتون در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که میزان پرولین و قندهای محلول در سرو در تمام غلظت ها بیشتر از تجمع این مواد در گیاه

مقایسه غلظت سرب در دو گیاه سروخمرهای

ریشه زیتون در غلظت ۱۰۰۰ حدود ۱۰۱ mg/kg بود که فقط ۳۸ mg/kg (۳۷/۶ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. نتایج غلظت سرب در ریشه و برگ‌های گیاه سرو نشان داد که با افزایش غلظت سرب غلظت این عنصر افزایش یافت (شکل‌های ۴ و ۳) اما غلظت سرب در ریشه در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر کاهش و در برگ فقط در غلظت ۲۰۰ افزایش نشان داد. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه سرو در غلظت ۵۰۰ حدود ۲۳۵ mg/kg بود که فقط ۳۰ (۱۲/۷ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد.

زیتون بود. جذب سرب نیز در ریشه سرو (به جز در غلظت ۲۰۰ mg/kg) به طور معنی‌داری بیشتر از جذب سرب در گیاه زیتون بود. غلظت سرب در برگ سرو در دو غلظت ۲۰۰ و ۵۰۰ بطور معنی-داری بیشتر از غلظت سرب در گیاه زیتون بود، در حالی که در ۱۰۰۰ mg/kg غلظت سرب در گیاه زیتون بیشتر از سرو بود (جدول ۲). نتایج غلظت سرب در ریشه و برگ‌های گیاه زیتون نشان داد که با افزایش غلظت سرب غلظت این عنصر افزایش یافت (شکل‌های ۴ و ۳). بالاترین میزان غلظت سرب در

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر سرب بر قند، پرولین، و غلظت سرب در برگ و ریشه در گیاه سرو و زیتون

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	قند	پرولین	غلظت سرب در برگ	غلظت سرب در ریشه
غلظت	۳۱۷*	۵۸/۵*	۶۲۳*	۲۱۵۸۶*
گونه	۱۲۴۸۹ *	۲۹۲۵*	۲۶۰ *	۱۸۷۱۶*
گونه * غلظت	۶۶۴*	۶۸/۹*	۲۳۲*	۹۳۰۶*
خطا	۵/۶	۴	۰/۶	۹

* نشانه معنی‌دار بودن در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سرب بر میزان پرولین، قندهای محلول، غلظت در برگ و ریشه در دو گیاه سرو و زیتون.

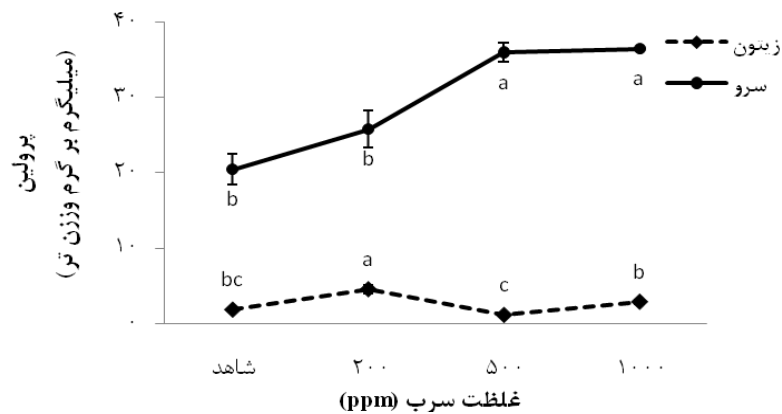
تیمار	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن خشک)		
(mg/kg)	سرو	زیتون	سرو	زیتون
شاهد	۲۰/۵ ^b	۱/۹ ^a	۸۱/۴ ^{ab}	۲۶ ^a
۲۰۰	۲۵/۸ ^b	۴/۶ ^a	۸۴/۴ ^{ab}	۶۱/۵ ^a
۵۰۰	۳۶ ^b	۱/۲ ^a	۱۱۰ ^b	۲۵ ^a
۱۰۰۰	۳۶/۵ ^b	۲/۹ ^a	۸۷/۴ ^b	۲۷/۵ ^a

• (حروف کوچک مقایسه ردیف‌ها بر اساس آزمون دانکن می‌باشد)

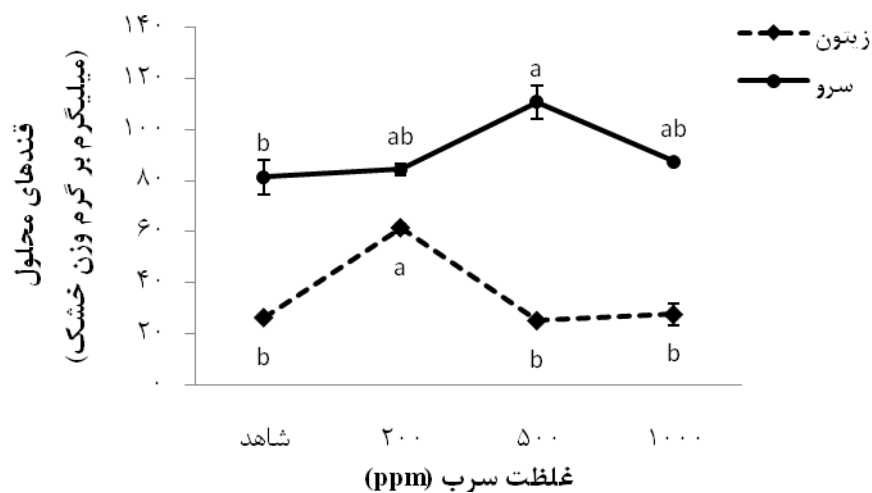
ادامه جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سرب بر میزان پرولین، قندهای محلول، غلظت در برگ و ریشه در دو گیاه سرو و زیتون.

تیمار	غلظت در برگ (mg/kg)	غلظت در ریشه (mg/kg)
سرو	زیتون	سرو
شاهد	۱۱/۳ ^a	۲۷/۶ ^b
۲۰۰	۳۹ ^b	۵۰ ^a
۵۰۰	۳۰/۵ ^b	۲۳۵ ^b
۱۰۰۰	۳۱/۴ ^b	۱۴۲ ^b

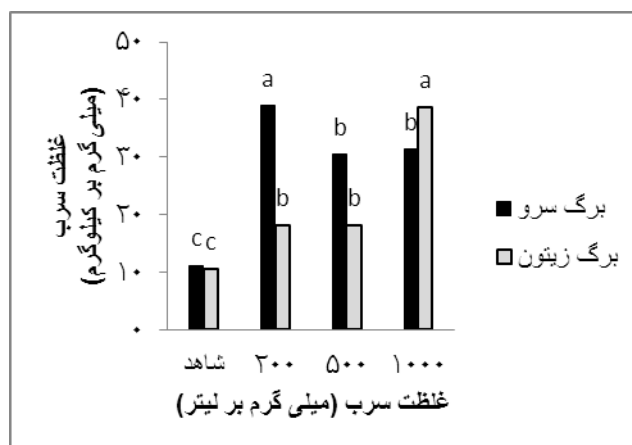
● (حروف کوچک مقایسه ردیف‌ها بر اساس آزمون دانکن می‌باشد)



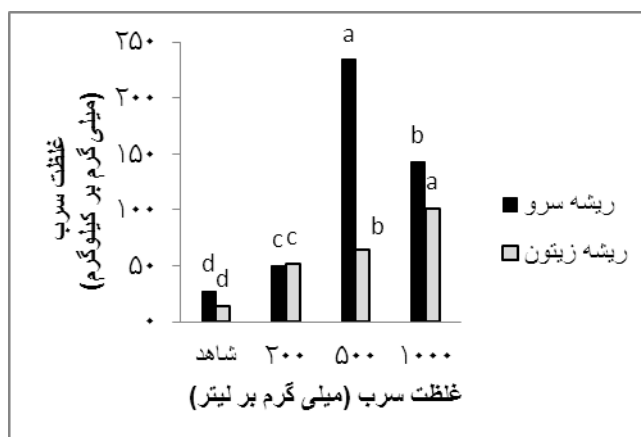
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان پرولین در گیاه سرو و زیتون (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه بر اساس آزمون دانکن می‌باشد)



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان قندهای محلول در گیاه سرو و زیتون (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه بر اساس آزمون دانکن می‌باشد)



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان غلظت آن در برگ سرو و زیتون (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه بر اساس آزمون دانکن می‌باشد)



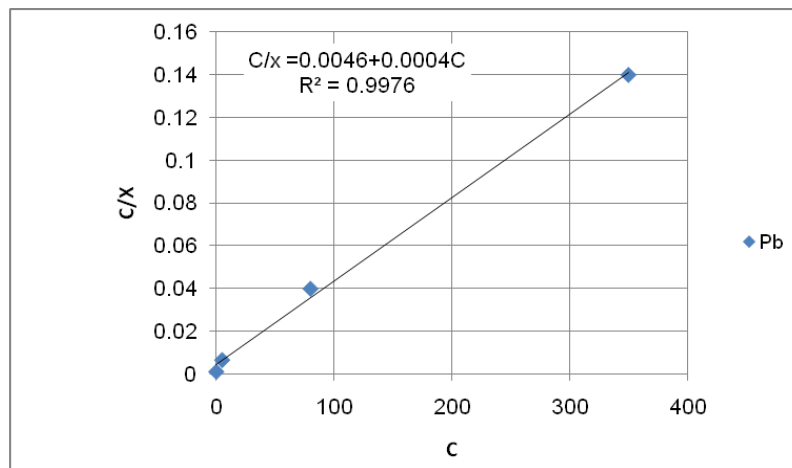
شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر میزان غلظت آن در ریشه سرو و زیتون (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه بر اساس آزمون دانکن می‌باشد).

میلی گرم بر کیلوگرم خاک است. با توجه به وزن اتمی سرب ۲۰۷/۲۱ گرم بر مول، ۱۲/۰۷ میلی مول بر کیلوگرم خاک می‌باشد. با استفاده از معادله تعادلی (۴) می‌توان در غلظت‌های مختلف تعادلی مقدار جذب سرب روی سطوح ذرات خاک مورد آزمایش را برآورد نمود.

$$x = \frac{2500 \times 0.0869C}{1 + 0.0869C} \quad (4)$$

بررسی نتایج حاصل از آزمون هم حرارت‌های جذب لانگمویر نشان داد با افزایش غلظت سرب در محیط خاک مورد آزمایش، افزایش در جذب تا حد ماکزیمم وجود دارد. شکل (۵) فرم خطی معادله لانگمویر و ضرایب آن را نشان می‌دهد.

همانگونه که از ضرایب معادله (۴) مشخص است حداکثر جذب سرب روی سطوح خاک معادل ۲۵۰۰



شکل ۵- تعیین ضرایب معادله خطی لانگمویر

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت سرب میزان پرولین در گیاه سرو افزایش یافت. میزان تجمع پرولین در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به طور معنی داری بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و شاهد بود. پرولین یکی از مهم ترین اسیدهای آمینه در گیاهان می باشد که در برابر انواع تنش ها از جمله شوری، خشکی، سرما، گرما و همچنین عناصر سنگین از گیاهان محافظت می کند. به طور کلی می توان سه نقش عمده را برای پرولین در مواجهه با عناصر سنگین قائل شد. پرولین می تواند با ترکیب شدن با سرب و تشکیل کمپلکس پرولین-سرب، سرب سمی را به یک ترکیب غیر سمی تبدیل نماید. پرولین همچنین می تواند به عنوان یک ماده تنظیم کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. عناصر سنگین موجب تغییر در رژیم آبی گیاهان می شوند. تغییر پتانسیل آب موجب تغییر در عملکرد آنزیم پرولین -۵- کربوکسیل (که یک آنزیم مهم در سنتز پرولین می باشد) شده و در نتیجه باعث تجمع پرولین می گردد (Delauney and Ali et al., 2001; Verma, 1993; Schat و همکاران (۱۹۹۷) تجمع

پرولین در گیاه *Silene vulgaris* را به کمبود آب که در نتیجه ی اثر عناصر سنگین حاصل می شود نسبت داده اند. پرولین همچنین می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال های آزاد را کاهش داده باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (Mehta & Alia and Saradhi, 1991; Gaur, 1999). عناصر سنگین به ویژه سرب باعث تولید رادیکال های فعال اکسیژن می شود. این رادیکال ها به سرعت با DNA، چربی ها و پروتئین ها واکنش کرده و موجب تخریب سلول ها می گردند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال های آزاد از آنتی اکسیدان ها استفاده می کند. مشابه نتایج به دست آمده در گیاه سرو و زیتون، Cherati و Araei و Khanlarian Khatiri (۱۳۸۷) در بررسی تأثیر سرب در دو رقم کلزا نشان دادند که مقدار پرولین ریشه در هر دو رقم نسبت به شاهد با افزایش غلظت سرب، افزایش معنی داری یافته است. نتایج Lamhamdi و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر سرب بر روی رشد نهال های گندم نشان دادند که افزایش غلظت سرب باعث تجمع پرولین در برگ و ریشه های این گیاه گردید. سرب همچنین به طور معنی داری

باعث افزایش تجمع پرولین در گیاه لوبیا گردید (Zengin and Munzuroglu, 2005). نتایج این آزمایش هم‌چنین نشان داد که تجمع پرولین به نوع گیاه بستگی دارد و در گیاه زیتون افزایش سرب تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین نداشت. این موضوع نشان داد که زیتون از مکانیسم‌های متفاوتی در برابر سرب استفاده می‌کند. مشابه این نتایج توسط Cherati Araei و Khatiri Khanlarian (۱۳۸۷) در بررسی تأثیر سرب بر روی دو رقم کلزا به دست آمد. این محققین نشان دادند که با افزایش سرب، تجمع پرولین در اندام‌های هوایی این ارقام معنی‌دار نمی‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت سرب میزان قندهای محلول در گیاه سرو افزایش نشان داد. بیشترین میزان قند در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. همان‌طور که اشاره شد یکی از اثرات عناصر سنگین تغییر در پتانسیل آبی گیاهان می‌باشد. تجمع اسمولیت‌های سازگار یکی از مهم‌ترین عوامل حفظ تعادل آبی در گیاهان می‌باشد. در این میان می‌توان به افزایش قندهای محلولی نظیر گلوکز، فروکتوز، سوکروز و غیره اشاره کرد. بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. افزایش مقدار قندهای محلول تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (Verma and Duby, 2001). سرب با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع سرب در سلول‌ها

محتوای قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط سمیت با سرب است. علاوه بر نقش قندهای محلول در تنظیم فشار اسمزی تصور می‌شود 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 (Duby and Verma, 2001). Moya و همکاران (۱۹۹۳) بیان داشتند که افزایش میزان قند-های محلول می‌تواند به دلیل اثر عناصر سنگین در کاهش استفاده از قندهای محلول برای رشد گیاه باشد. ضمناً این محققین اضافه نمودند که عناصر سنگین می‌توانند باعث کاهش تثبیت CO_2 شده و به این طریق باعث کاهش قندها گردند ولی اثر عامل اول خیلی بیشتر از تأثیر منفی آن می‌باشد، لذا قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. غلظت‌های بالای عناصر سنگین باعث بی‌نظمی در متابولیسم مواد غذایی به ویژه عدم تعادل بین پروتئین‌ها و قندها می‌گردد (Costa and Spitz, 1997). افزایش نشاسته و قند در برگ‌های گیاهان *Betula*, *Picea*, *Pinus* در اثر عناصر سنگین نشان‌دهنده اثر این عناصر در ممانعت از هیدرولیز این مواد است (Bishnoi et al., 1993). اثر سرب هم‌چنین ممکن است باعث تغییر در فعالیت بعضی از آنزیم‌ها گردد. بعضی از عناصر سنگین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیر محلول و اسید اینورتاز و سوکروز سنتتاز می‌شود. در نتیجه باعث افزایش قندهای محلول در گیاه می‌شوند (Sanita et al., 1999). بیشترین تجمع قندهای محلول در گیاه زیتون در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب مشاهده شد ولی افزایشی در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نسبت به شاهد مشاهده

نشد. کاهش قندهای محلول در غلظت‌های بالا نسبت به ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب ممکن است به دلیل کاهش فتوسنتز (از طریق تخریب کلروپلاست) و یا تحریک سرعت تنفس باشد.

نتایج تجمع سرب در ریشه و برگ‌های گیاه زیتون نشان داد که با افزایش غلظت سرب تجمع این عنصر افزایش یافت. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه زیتون در غلظت ۱۰۰۰ حدود 101 mg/kg بود که فقط 38 mg/kg (۳۷/۶ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. بالاترین میزان غلظت سرب در ریشه سرو در غلظت ۵۰۰ حدود 235 mg/kg بود که فقط 30 (۱۲/۷ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد. این موضوع نشان می‌دهد که انتقال سرب از ریشه به برگ‌ها بسیار محدود می‌باشد. مطالعات مشابه نیز نشان می‌دهد که اکثر سرب در خود ریشه باقی مانده و کمتر به اندام‌های دیگر منتقل می‌شود. مطالعات انجام شده در گیاه جو و ذرت نشان داد که سرب در قسمت‌های بیرونی ریشه و به عبارت دیگر در قسمت‌های پارانشیم‌های پوستی جذب شده و لایه آندوسپرم مانند سپری مانع ورود سرب به منطقه استوانه مرکزی می‌گردد (Parta et al., 2004). عدم ورود سرب به منطقه استوانه مرکزی بدین معنی است که سرب به منطقه آوندهای چوب وارد نشده و قادر نیست از طریق آوندها که مسیری آسان برای انتقال مواد می‌باشد به قسمت‌های هوایی گیاه انتقال یابد.

Cherati Araei و Khanlarian Khatiri (۱۳۸۷) در بررسی تأثیر سرب بر روی دو رقم کلزا نشان دادند که غلظت سرب در ریشه و اندام هوایی هر دو رقم نسبت به شاهد با افزایش غلظت سرب محلول غذایی افزایش معنی‌داری یافت، ولی مقدار سرب در اندام هوایی هر دو رقم بسیار کمتر از ریشه می‌باشد.

Malecka و همکاران (۲۰۰۱) نیز نتایج مشابهی را روی گیاه نخود به دست آوردند. Burzynski (۱۹۸۷) نشان داد که گیاه نخود قادر است 75 mg/kg سرب را در ریشه‌ها انباشته کند و بردباری بالایی نسبت به سرب از خود نشان دهد. گیاه *Brassica juncea* حدود 100 mg/kg سرب را در ریشه و 10 mg/kg سرب را در اندام هوایی انباشته می‌کند. به عبارتی ریشه ۱۰ بار بیشتر از اندام هوایی سرب را انباشته می‌کند (Kumar, 1995). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محلول، جذب این عنصر در گیاه زیتون افزایش می‌یابد. این امر می‌تواند به دلیل بیش‌انباشتی این یون در غلظت‌های بالاتر باشد. نتایج Zou و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه *Athyrium wardii* Lamhamdi و همکاران (۲۰۱۱) بر روی اثر سرب در گیاه گندم، و مطالعات Yang و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی اثر سرب در دو کولتیوار گندم (Xihan, Ningchun) نیز نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محلول غذایی، تجمع این عنصر در گیاه افزایش می‌یابد. Chantachon و همکاران (۲۰۰۴) اثر سرب با غلظت‌های ۵، ۷، ۹ و ۱۱ گرم بر لیتر را بر دو گونه *Vetiveria nemoralis* و *Vetiveria zizanioides* (مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که در غلظت‌های بالای سرب گونه *V. zizanioides* مقدار سرب بیشتری را نسبت به گونه دیگر در ریشه انباشته می‌کند. بر خلاف زیتون، غلظت سرب در گیاه سرو با افزایش غلظت کاهش یافت. عدم جذب در غلظت‌های بالاتر در این گیاه را می‌توان به مقاومت این گیاه در برابر این عنصر سمی نسبت داد. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که دو گیاه مورد مطالعه تحت شرایط این آزمایش قادر به رشد

در این پژوهش، تداوم تحقیقات تکمیلی در شرایط
عرصه، پیشنهاد می شود.

در خاک آلوده به سرب می باشند و در این میان
عملکرد سرو بهتر بود. با توجه به پاسخ های ارائه شده

References

Abdipur, M. 2004. Tree and shrubs in green space of city. Mahname Pajuheshi and Amuzeshi of Rishaha 61, 47-51.

Aftabtalab, N. 2008. Ability of phytoremediation of lead and cadmium by *Platanus orientalis* and *Cupressus arizonica*, Ms thesis, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, PP. 130.

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.

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

Burzynski, M. 1987. The uptake and transpiration of water and the accumulation of lead by plants growing on lead Incorporated into Chemical Equilibrium Models. Soil Science Society of America chloride solutions. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 56, 271 – 280.

Chantachon, S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Antanasarit, S.T., Patham, S. U., and soonthornsarathool, V. 2004. Phytoextraction of lead from contaminated soil by Vetiver grass (*Vetiveria* Sp.). Water Air & Soil Pollution 154, 37-55.

Cherati Araei, A. and Khanlarian Khatiri, M. 2008. The effects of lead on germination, protein and proline contents and index of tolerance in two varieties of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Environmental Science 3, 41-52.

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.

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

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.

Eick, M. J., Peak, J. D., Brady, P. V. and Pesek, j. D. 1999. Kinetics of lead absorption/desorption on goethite: residence time effect. Soil Science 164, 28-39.

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*, Inorg. Chimica Acta 32, 93-94.

Goldenberg, S. 1995. Adsorption Models, American Society of Agronomy, 677 S. Segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. Chemical Equilibrium and Reaction Models, SSSA Special Publication 42-75

Kabata-Pendias, A. 2001. Trace elements in soil and plants, 3rd Ed, CRC Press, England.

Khodakarami, Y. 2008. Assessment of biofiltration potential in *Quercus brantii* and *pistacia atlantica*. Ms thesis, Faculty of Natural Resources, University of Tehran PP. 146.

Khodakarami, Y., Shirvany, A., Zahedi Amiri, G., Matinizadeh, M. and Safari, H. 2009. Comparison

- of lead absorption in organics (root, stem and leaf) of Oak (*Quercus brantii*) and Pistachio (*Pistacia atlantica*) seedling by spraying. Iranian Journal of Forest, 1: 313-320.
- Khodaverdiloo, H. and Taghliabad, H. 2011. Sorption and desorption of lead (Pb) and effect of cyclic wetting-drying on metal distribution in two soils with different properties. Water and Soil Science 21(1): 149-163.
- Kim, Y.Y. Yang, y. and Lee, Y. 2002. Pb and Cd uptake in rice roots. Plant Physiology 116, 368-372.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. 56-97.
- Helebust, J. A. and Craig, J. S., (Eds.). hand book of physiological method. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
- Kumar, P. B. A. N., Dushenkov, V., Motto, H., and Raskin, I. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soil. Environmental Science & Technology 29, 1232-1238.
- Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R. And Sayah, F. 2011. Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. Comptes Rendus Biologies 334, 118-126.
- lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany 52, 199-223.
- Malecka, A. , Jarmuszkiewicz, W. And Tomaszewska, B. 2001. Antioxidative defense to lead stress in subcellular compartments of pea root cells. Acta Biochimica Polonica 48, 687-698.
- 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 Phytologist 143, 253-259.
- Moya J. L., Ros R., Picazo I. 1993: Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. Photosynthesis Research 36, 75-80.
- Pallavi, Sh. and Rama, Sh. 2005. Lead toxicity in plant. Brazilian Journal of Plant Physiology 17,1-6.
- Parta, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. 2004. Comparison of mercury.
- 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.
- Ruley, A. T, Nilesh, C.S. and Shivendra, V. S. 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plants, *Sesbania dormancies*. Plant Physiology and Biochemistry 41, 899-906.
- Sanita, L. and Gabbrielli, 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, .P and Dubey, R. S. 2004. Ascorbate peroxidase from rice seedling. Plant Sciences 167, 541-550.
- Simkeshzadeh, N., M. Mobli. N. Etemadi and B. Baninasab. 2010. Assessment of the frost resistance in some olive cultivars using visual and chlorophyll fluorescence. Journal of Horticultural Sciences 24,163-169.

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

Yang, X., Baligor, V. C., Mantest, D. C. and Clark, R. B. 1996. Plant tolerance to Nickel toxicity: Influx, transport and accumulation of Nickel in four species. *Journal of Plant Nutrition* 19, 73-85.

Yang, Y. L., Zhang, Y. Y., Wei, X. L., You, J., Wang, W. R., Lu, J., and Shi, R. X. 2011. Comparative antioxidative responses and proline metabolism in two wheat cultivars under short term lead stress, *Ecotoxicol. Environmental Safety* 74, 733-740.

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 Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47(2), 157-164.

Zou, T., Li, T., Zhanga, X., Yua, H., and Luob, H. 2011. Lead accumulation and tolerance characteristics of *Athyrium wardii* (Hook.) as a potential phytostabilizer. *Journal of Hazardous Materials* 186, 683-689.