

بررسی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه کاج بروسیا (*Pinus brutia*) به انباشت کادمیم و سرب

اصغر مصلح‌آرانی^{۱*}، مهری خسروی^۲، حمیدرضا عظیم‌زاده^۱، حمید سودایی‌زاده^۱ و اصغر سپه‌وند^۳

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۳۰)

چکیده

به‌منظور مقایسه انباشت سرب و کادمیم در ریشه و برگ در گیاه کاج بروسیا و هم‌چنین بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف این عناصر بر میزان پرولین و قندهای محلول، پژوهش حاضر در قالب طرح فاکتوریل در سه تکرار انجام گرفت. با افزایش غلظت سرب تغییر معنی‌داری در میزان پرولین مشاهده نشد. در مقابل کادمیم به‌ویژه در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین شد. با افزایش غلظت کادمیم، تغییر معنی‌داری در میزان قندهای محلول مشاهده نشد. در مقابل سرب در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش نسبی میزان قندهای محلول شد. با افزایش غلظت کادمیم و سرب میزان جذب آن در ریشه و برگ افزایش یافت. براساس نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد که گیاه کاج بروسیا با تولید پرولین با اثر سمیت کادمیم مقابله می‌کند. انباشت کادمیم در ریشه بیشتر از سرب و مقدار آن قابل توجه بود، بنابراین می‌توان از کاج بروسیا جهت تثبیتی در خاکهای آلوده به کادمیم و سرب استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سرب، کاج بروسیا، کادمیم

۱. گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۲. گروه جنگلداری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

۳. گروه جنگلداری، اداره کل منابع طبیعی استان لرستان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: amosleh@yazd.ac.ir

مقدمه

به‌علت افزایش فعالیت‌های انسانی از اواخر قرن ۱۹ و اوایل قرن ۲۰، آلودگی‌های ناشی از فلزات سنگین به‌طور وسیعی در دنیا افزایش داشته است. در بین فلزات سنگین، سرب و کادمیم از مهمترین آلوده‌کننده‌ها هستند که در اثر فعالیت‌های مدرن انسانی تولید می‌شوند (۳۸). سرب بیشتر از طریق صنایع ساخت باتری‌های سربی، افزودنی‌های رنگ و بنزین، حشره‌کش‌ها، کودهای شیمیایی، آگروز اتومبیل و لحیم‌کاری وارد محیط زیست می‌گردد (۱۳). سرب یکی از فلزات سمی برای انسان و همچنین جزو فلزات غیر ضروری برای گیاهان است که عملکرد بیولوژیک شناخته شده‌ای ندارد، ولی به‌علت انحلال‌پذیری این عنصر در آب، به‌راحتی توسط ریشه جذب گیاه می‌گردد (۱۹) و از این طریق رشد و متابولیسم گیاهان با افزایش این فلزات در محیط تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (۳۴).

کادمیم نیز یک فلز آلاینده محیطی است که در طبیعت منتشر می‌شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. هم‌چنین استفاده از کودهای شیمیایی، مخصوصاً کودهای فسفاته مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (۷ و ۲۵). کادمیم اگرچه برای رشد گیاه ضروری نیست، اما این فلز به‌راحتی از طریق پوست ریشه جذب می‌شود و سپس از راه سیمپلاستی یا آپوپلاستی وارد بافت چوب می‌شود (۳۱). کادمیم بر تقسیم و رشد سلول‌ها، رشد کلی گیاه، تقسیم سلولی منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (۱۱). کادمیم سبب کلروز و نکروز برگها (۱۸ و ۳۹)، کاهش مقدار کلروفیل کل، کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در گیاهان آلی (۳۱ و ۳۶) و باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نیز می‌شود (۱۷). مهمترین دلیل اثر تخریبی سرب و کادمیم این است که این عناصر باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید (O_2^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. این رادیکال‌ها به‌سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش کرده و موجب تخریب

سلول‌ها می‌گردند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کند (۳۳). در بین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی پرولین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرولین آنتی‌اکسیدانی است که پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد بوده و با اتصال به سرب و تشکیل کمپلکس سرب-پرولین مانع سمیت این عنصر می‌گردد (۱۵). عناصر سنگین در بسیاری از گیاهان باعث افزایش قندهای محلول نیز می‌گردد. افزایش مقدار قندهای احیاکننده تحت شرایط تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (۳۷).

از طرف دیگر گونه‌های مختلف گیاهی می‌توانند به‌عنوان فیلترهای زیستی نقش مهمی را در حذف آلودگی‌های محیطی به‌عهده داشته باشند. برخی از عناصر سنگین مانند سرب و کادمیم می‌توانند جذب گیاه شده و در برگ و یا شاخه‌ها انباشت شوند. اطلاع از این امر کمک شایانی به مدیریت طرح‌های زیست‌پالایی در مناطق آلوده می‌نمایند (۱ و ۳). گیاه‌پالایی (Phytoremediation) به فلزات سنگین شامل دو فرایند اصلی است. یکی گیاه تثبیتی (Phytostabilization) است که به تثبیت فلزات در خاک یا ریشه گفته می‌شود و دیگری گیاه استخراجی (Phytoextraction) به‌معنای جذب آلاینده‌ها توسط گیاه از محیط خاک و انتقال آن از ریشه به اندام‌های هوایی است (۳۰). در این تحقیق گیاه کاج بروسیا که در فضای سبز شهری به مقدار زیاد به‌کار می‌رود، استفاده شد. 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 (۵). کاج بروسیا گونه‌ای کم‌توقع است که در مناطقی با زمستان‌های ملایم و تابستان‌های گرم‌وخشک رشد می‌کند و از گونه‌های تندرشد بوده و رشد آن به‌ویژه در جوانی سریع است و در پارک‌ها و فضای سبز شهری و زیبایی منظر در زمستان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴).

در تحقیق حاضر اثر سرب و کادمیم بر میزان پرولین و

خوب تکان داده و میزان جذب لایه رنگی فوقانی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (۶).

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 نمونه برداشته و سپس بر روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده و خوب هم‌زده و پس از آن ۵ میلی‌لیتر 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 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید (۲۰).

اندازه‌گیری میزان سرب و کادمیم

با در نظر گرفتن تیمارهای مورد مطالعه، تعداد 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 شستشو داده شده 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 گیاهی در بالن ژوژه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری 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 میلی‌لیتر رسانده تا برای تجزیه

قندهای محلول در گیاه کاج بروسیا مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. این تحقیق هم‌چنین میزان کادمیم و سرب انباشته شده به وسیله ریشه‌ها و برگ‌ها در گونه کاج بروسیا را برای تعیین توانایی آن جهت گیاه پالایی مورد مقایسه قرار می‌دهد.

مواد و روش‌ها

نهال‌های دو ساله گیاه کاج بروسیا که در مخلوط رس، ماسه و کود حیوانی به نسبت مساوی کشت شده بودند از نهالستان شهرستان خرم‌آباد تهیه شد. نهال‌های هم‌اندازه 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. برای تهیه تیمار سرب و کادمیم از کلرید سرب و نترات کادمیم استفاده شد و غلظت‌های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از مواد فوق ساخته شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. 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، به طوری که در هر بار آبیاری آب از ته گلدانها خارج شد. در اواسط شهریور ماه نمونه‌های برگ و ریشه جهت اندازه‌گیری مقدار پرولین، قندهای محلول نمونه برداری شد. جهت اندازه‌گیری انباشت عناصر سنگین، گیاهان به طور کامل از خاک خارج به منظور زدودن آلاینده‌های سطحی با آب شستشو داده شده و کاملاً خشک گردیدند.

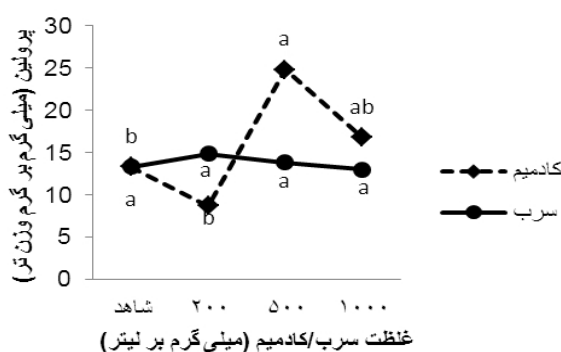
اندازه‌گیری مقدار پرولین

مقدار ۰/۵ گرم از برگ گیاهان را توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد، سپس لوله‌ها در حمام یخ به مدت نیم ساعت قرار گرفتند. پس از آن به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و آنها را

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر افزایش غلظت دو عنصر سرب و کادمیم بر صفات مورد مطالعه در گونه کاج بروسیا

| منابع تغییر | درجه آزادی | پرولین | قندهای محلول | میانگین مربعات | |
|------------------|------------|------------------|--------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | | | انباشت عناصر سنگین در برگ | انباشت عناصر سنگین در ریشه |
| غلظت عناصر سنگین | ۲ | ۵۷/۳* | ۱۳۳۸ ^{ns} | ۱۵۱** | ۶۱۳۶۷** |
| نوع عنصر | ۱ | ۲۴ ^{ns} | ۸۹۴ ^{ns} | ۱۴۱۰** | ۱۹۳۸۲** |
| غلظت × نوع عنصر | ۲ | ۷۴** | ۱۵۳۸* | ۳۷۲** | ۶۱۹۲۰** |

** و * : میانگین مربعات به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و ns بدون همبستگی معنی‌دار هستند.



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف محلول کادمیم و سرب بر میزان پرولین در گیاه کاج بروسیا (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه براساس آزمون دانکن می‌باشد).

متقابل غلظت × عنصر بر پرولین، قندهای محلول و انباشت سرب و کادمیم در برگ و ریشه معنی‌دار بود. با افزایش غلظت سرب تغییر معنی‌داری در میزان پرولین مشاهده نشد. در مقابل کادمیم به‌ویژه در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین شد (شکل ۱). تفاوت معنی‌داری بین اثر سرب و کادمیم بر میزان پرولین مشاهده نشد (جدول ۲). با افزایش غلظت کادمیم تغییر معنی‌داری در میزان قندهای محلول مشاهده نشد. در مقابل سرب در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش میزان قندهای محلول شد (شکل ۲). تفاوت معنی‌داری بین اثر سرب و کادمیم بر میزان قندهای محلول مشاهده نشد (جدول ۲). با افزایش غلظت کادمیم میزان جذب آن در ریشه افزایش یافت به‌طوری‌که از میزان ۹/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم در شاهد به میزان ۴۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت. با افزایش غلظت سرب

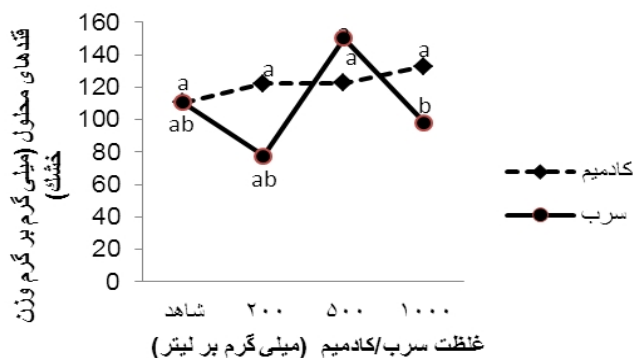
با دستگاه جذب‌اتمی آماده شونده. در پایان مقدار سرب و کادمیم با استفاده از دستگاه جذب‌اتمی مدل (novAA300) که به‌روش شعله کار می‌کند، مورد سنجش قرار گرفتند. داده‌های حاصل با نرم‌افزار Spss (Version 14) و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan استفاده شد. محاسبه احتمال معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P < 0.05$ انجام شد. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. اثر غلظت دو عنصر سنگین مورد آزمایش بر پرولین، انباشت سرب و کادمیم در برگ و ریشه معنی‌دار بود. نوع عنصر بر میزان پرولین و قندهای محلول معنی‌دار نبود. اثر

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سرب و کادمیم بر میزان پرولین، قندهای محلول، انباشت در برگ و ریشه در گیاه کاج بروسیا (حروف کوچک مقایسه ردیف‌ها براساس آزمون دانکن می‌باشد).

| قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) | | پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) | | تیمار |
|--|--------------------|---------------------------------|--------------------|------------|
| سرب | کادمیم | سرب | کادمیم | (میلی‌گرم) |
| ۱۱۰ ^a | ۱۱۰ ^a | ۱۳/۳ ^a | ۱۳/۳ ^a | شاهد |
| ۱۲۲ ^a | ۷۷/۵ ^a | ۸/۷ ^a | ۱۴/۸ ^{ab} | ۲۰۰ |
| ۱۲۲ ^a | ۱۵۰ ^a | ۲۴/۸ ^a | ۱۳/۸ ^{ab} | ۵۰۰ |
| ۱۳۳ ^a | ۹۸ ^a | ۱۶/۸ ^a | ۱۳ ^a | ۱۰۰۰ |
| انباشت در ریشه (میلی‌گرم) | | انباشت در برگ (میلی‌گرم) | | تیمار |
| سرب | کادمیم | سرب | کادمیم | (میلی‌گرم) |
| ۹/۸ ^a | ۹/۸ ^a | ۶ ^a | ۶ ^a | شاهد |
| ۹۵/۷ ^b | ۲۰۱ ^a | ۱۲/۵ ^a | ۲۹/۴ ^b | ۲۰۰ |
| ۳۱۵/۷ ^a | ۳۰۳/۵ ^a | ۱۰/۳ ^a | ۴۴/۲ ^b | ۵۰۰ |
| ۴۸۰ ^a | ۱۸۹/۹ ^b | ۲۹/۷ ^a | ۳۲ ^a | ۱۰۰۰ |



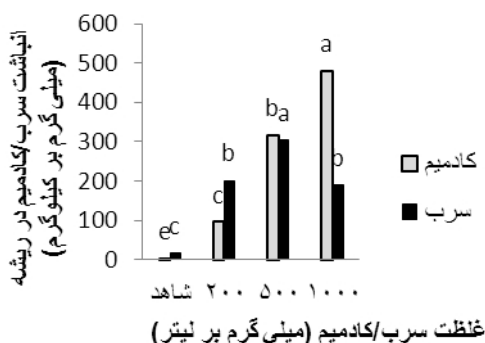
شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف محلول کادمیم و سرب بر میزان قندهای محلول در گیاه کاج بروسیا (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه براساس آزمون دانکن می‌باشد).

لیتر بیشتر از انباشت کادمیم بود (جدول ۲). انباشت سرب در برگ در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری بیشتر از انباشت کادمیم بود.

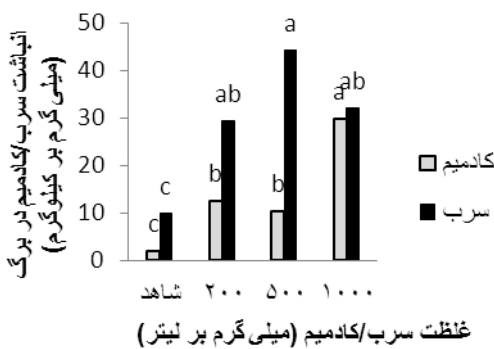
بحث و نتیجه‌گیری

اگرچه پرولین آنتی‌اکسیدانی است که پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکساید (O_2^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^\cdot) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) بوده و هم‌چنین می‌تواند با اتصال به سرب و تشکیل کمپلکس سرب-پرولین مانع سمیت این

نیز میزان جذب آن در ریشه افزایش یافت به‌طوری‌که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جذب آن به ۱۸۹/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مجدداً جذب سرب کاهش یافت. با افزایش غلظت کادمیم انباشت آن در برگ‌ها افزایش یافت. با افزایش غلظت سرب نیز انباشت آن در برگ‌ها افزایش و مجدداً در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت (شکل ۳ و ۴). انباشت کادمیم در ریشه در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری بیشتر از انباشت سرب بود. در مقابل انباشت سرب در ریشه در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف محلول کادمیم و سرب بر میزان انباشت آن در ریشه گیاه کاج بروسیا (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه براساس آزمون دانکن می‌باشد).



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف کادمیم و سرب بر میزان انباشت آن در برگ گیاه کاج بروسیا (حروف کوچک مقایسه غلظت‌ها در هر گونه براساس آزمون دانکن می‌باشد).

نماید. پرولین هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل کند. عناصر سنگین موجب تغییر در رژیم آبی گیاهان می‌شوند. تغییر پتانسیل آب موجب تغییر در عملکرد آنزیم پیروولین-۵-کربوکسیل (که یک آنزیم مهم در سنتز پرولین می‌باشد) شده و در نتیجه باعث تجمع پرولین می‌گردد (۱۲). اسچت و همکاران (۳۲) تجمع پرولین در گیاه *Silene vulgaris* را به کمبود آب که در نتیجه‌ی اثر عناصر سنگین حاصل می‌شود نسبت داده‌اند. پرولین هم‌چنین می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش داده باعث حفظ تمامیت غشاها گردد (۲۴). عناصر سنگین به‌ویژه کادمیم باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود. این رادیکال‌ها

عنصر گردد (۱۵). ولی نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت سرب تأثیر معنی‌داری بر تجمع پرولین در گیاه کاج بروسیا نداشت. این نشان می‌دهد که کاج از مکانیسم‌های دیگری برای مقابله با سرب استفاده می‌کند. مشابه این نتیجه در بررسی تأثیر سرب بر روی دو رقم کلزا به‌دست آمد (۲). این محققین نشان دادند که با افزایش سرب، تجمع پرولین در اندام‌های هوایی این ارقام معنی‌دار نمی‌باشد. کادمیم بر خلاف سرب، در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار پرولین در گیاه کاج بروسیا گردید. به‌طور کلی می‌توان سه نقش عمده را برای پرولین در مواجهه با عناصر سنگین قائل شد. پرولین می‌تواند با ترکیب شدن با کادمیم و تشکیل کمپلکس کادمیم-پرولین، کادمیم سمی را به یک ترکیب غیرسمی تبدیل

(۳۷).

مویا و همکاران (۲۶) بیان داشتند که افزایش میزان قندهای 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. افزایش نشاسته و قند در برگ‌های گیاهان *Betula*, *Picea*, *Pinus* اثر عناصر سنگین نشان‌دهنده اثر این عناصر در ممانعت از هیدرولیز این مواد است (۸). افزایشی در قندهای محلول در گیاه کاج بروسیا در غلظت‌های ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد مشاهده نشد. کاهش قندهای محلول در غلظت بالای سرب ممکن است به دلیل کاهش فتوسنتز (از طریق تخریب کلروپلاست) و یا تحریک سرعت تنفس باشد.

در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان جذب کادمیم به‌طور معنی‌داری بیشتر از جذب سرب بود. این موضوع می‌تواند به واکنش گیاه و یا حالتی که این عناصر در خاک وجود دارند بستگی داشته باشد. عناصر سنگین در داخل خاک به چندین حالت دیده می‌شوند: ۱- در محلول خاک که یونها به‌صورت آزاد و قابل جذب برای گیاهان می‌باشد. ۲- بخشی که به ساختار غیر آلی خاک می‌چسبد. ۳- بخشی که به مواد آلی می‌چسبد. ۴- بخشی که به‌صورت کربنات، هیدروکسید و اکساید رسوب می‌کنند. ۵- بخشی که در ساختار سیلیکات‌های معدنی جا می‌گیرند (۲۲). برای جذب شدن، عناصر سنگین باید قابل دسترس ریشه باشند. قابل دسترس بودن عناصر سنگین برای ریشه به میزان حلالیت عنصر بستگی دارد. فقط در دو حالت اول عناصر به‌صورت یون قابل دسترس ریشه‌ها می‌باشند. از بین دو عنصر مورد مطالعه کادمیم در فرم قابل دسترس برای ریشه بوده درحالی‌که سرب به دلیل رسوب در خاک کمتر در فرم‌های قابل دسترس برای ریشه قرار دارد که این ممکن است یکی از دلایلی باشد که منجر به جذب بیشتر کادمیم در گیاه

به‌سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش نشان داده و موجب تخریب سلول‌ها می‌گردند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدانها استفاده می‌کنند. در بررسی عنصر گردد (۱۵). ولی نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش اثر کادمیم بر تجمع میزان پرولین در دو گیاه هویج و کلم نیز نشان داده شد که با افزایش این عنصر در محیط کشت میزان پرولین افزایش قابل ملاحظه‌ای را به‌ویژه در کلم نشان داد (۱۰). نتایج این آزمایش هم‌چنین نشان داد که میزان پرولین به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت کادمیم از ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک کاهش نشان می‌دهد. در مطالعه حاضر نیز میزان کادمیم در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش پرولین شد. این موضوع می‌تواند مربوط به سمیت این عنصر در غلظت‌های بالا باشد که بر متابولیسم پروتئین اثر می‌گذارد.

اگرچه سرب باعث افزایش میزان پرولین نگردید در مقابل قندهای محلول را به‌طور نسبی در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش داد. 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 (۳۷). سرب با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فرا ساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند می‌شود. 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 حل‌شونده، گیاه بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه سلول در شرایط محیطی تحت تنش در حد مطلوب نگه دارد

مورد مطالعه شده است (۲۲). در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان جذب سرب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این به‌وضوح نشان داد که کاج بروسیا با جلوگیری از ورود سرب به ریشه در برابر این عنصر مقاومت می‌کند. به‌عبارت دیگر در غلظت‌های بالا، کاج با عدم جذب سرب، سمیت آنرا تحمل می‌کند. نتایج هم‌چنین نشان داد که با افزایش غلظت سرب و کادمیم میزان جذب آن در ریشه کاج بروسیا افزایش یافت. احتمالاً دلیل افزایش غلظت کادمیم، افزایش زیست‌فراهمی این عناصر در خاک بوده است. مشابه مطالعه حاضر ندجیمی و داوود (۲۷) در بررسی اثر کادمیم در گیاه *Atriplex halimus* نشان دادند که با افزایش این عنصر تجمع آن در ریشه و ساقه گیاه افزایش می‌یابد. مطالعات گیل و همکاران (۱۶) در بررسی اثر کادمیم بر روی گیاه *Lepidium Sativum* نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیم انباشتگی این عنصر در ریشه و برگ‌ها افزایش یافت به‌طوری‌که میزان آن در ریشه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به ۷۰۰ میلی‌گرم رسید. سان و همکاران (۳۵) در بررسی اثر کادمیم بر گونه *Solanum nigrum* نشان دادند که افزایش غلظت کادمیم باعث افزایش تجمع این عنصر در ریشه و ساقه آن گردید. نتایج مشابه در مطالعات فان و همکاران (۱۴) در بررسی اثر کادمیم بر روی گونه *Swietenia macrophylla*، مطالعات نیکلیک و همکاران (۲۸) در بررسی اثر کادمیم بر گونه‌های هیبرید تبریزی، به‌دست آمد.

تجمع یون کادمیم در ریشه کاج بروسیا در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، ۴۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که فقط ۶ درصد آن به برگ‌ها منتقل شد درحالی‌که میزان انتقال سرب به برگ‌ها در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر که بیشترین جذب سرب در آن مشاهده شد، حدود ۱۴/۵ درصد بود. این نشان می‌دهد که انتقال سرب در کاج بروسیا بهتر از انتقال کادمیم انجام می‌شود. در عین حال نتایج این تحقیق نشان داد که انتقال هر دو عنصر در گیاه بسیار محدود می‌باشد. مطالعات انجام شده در گیاه جو و ذرت نشان داد که سرب در قسمت‌های بیرونی ریشه و به‌عبارت دیگر در قسمت‌های پارانشیم‌های پوستی جذب

شده و لایه آندوسپرم مانند سپری مانع ورود سرب به منطقه استوانه مرکزی می‌گردد (۲۹). 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. چراتی و خانلریان (۲) در بررسی تأثیر سرب بر روی دو رقم کلزا نشان دادند که انباشتگی یون سرب در ریشه و اندام هوایی هر دو رقم نسبت به شاهد با افزایش غلظت سرب محلول غذایی افزایش معنی‌داری یافت، ولی مقدار یون سرب در اندام‌هوائی هر دو رقم بسیار کمتر از ریشه می‌باشد. ملکا و همکاران (۲۳) نیز نتایج مشابهی را روی گیاه نخود به‌دست آوردند. گیاه نخود قادر است ۷۵ میلی‌گرم سرب را در ریشه‌ها انباشته کند و بردباری بالایی نسبت به سرب از خود نشان دهد (۹). گیاه *Brassica juncea* حدود ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب را در ریشه و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب را در اندام‌هوائی انباشته می‌کند. به‌عبارتی ریشه ۱۰ بار بیشتر از اندام‌هوائی سرب را انباشته می‌کند (۲۱).

براساس نتایج این تحقیق، به‌نظر می‌رسد که گیاه کاج بروسیا در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با تولید پرولین با اثر سمیت کادمیم مقابله می‌کند. قندهای محلول نقش اساسی در این فرایند ندارند. عدم جذب عنصر سرب در غلظت‌های بالا نیز می‌تواند یکی دیگر از راه‌های تحمل توسط کاج بروسیا به عنصر سرب باشد. احتمالاً کاج بروسیا از مکانیسم‌های دیگری نیز برای مقابله با این عناصر استفاده می‌کند. انباشت کادمیم در ریشه بیشتر از سرب و مقدار قابل توجهی بود، بنابراین می‌توان از این گیاه جهت تثبیت در خاک‌های آلوده به کادمیم استفاده نمود. افزایش سرب تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث جذب بیشتر این عنصر در گیاه نشد، بنابراین به‌نظر می‌رسد می‌توان از این گیاه برای ایجاد فضای سبز در مناطق آلوده به سرب استفاده نمود.

منابع مورد استفاده

۱. آفتاب طلب، ن. ۱۳۸۶. بررسی توان پالایش دو عنصر سمی کادمیوم و سرب بوسیله نهال‌های دوساله دو گونه چنار و سرو سیمین. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۳۰ ص.
۲. چراتی آرائی، ع. و م. خانلریان خطیری. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر سرب بر جوانه‌زنی، مقدار پروتئین و پرولین و ارزش تحمل به سرب در دو رقم کلزا (*Brassica napuss L.*)، علوم محیطی ۳: ۴۱-۵۲.
۳. خداکرمی، ی. ۱۳۸۶. ارزیابی توان زیست پالایی خاک در دو گونه بلوط ایرانی و بنه، (*Quercus brantii & Pistacia atlantica*) پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۱۴۶ ص.
۴. دستمالچی، م. ۱۳۷۴. کاج بروسیا، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، شماره ۱۳۰، ۱۳۹ ص.
۵. فتاحی، م. ۱۳۷۳. بررسی سوزنی برگان غیربومی سازگار در استان کردستان، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، شماره ۱۰۹، ۵۴ ص.
6. Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
7. Barylá, A., P. Carrier, F. Frank, C. Coulomb, C. Sahut and M. Havaux. 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta* 212: 696-709.
8. Bishnoi, N. R., A. Dua, V. K. Gupta and S. K. Sawhney. 1993. Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas. *Agriculture ecosystems & environment* 47 (1): 47-57.
9. Burzynski, M. 1987. The uptake and transpiration of water and the accumulation of lead by plants growing on lead chloride solutions. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 56: 271 - 280.
10. Chen, Y. X., Y. F. He, Y. M. Luo, Y. L. Yu, Q. Lin, and M. H. Wong. 2003. Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium. *Chemosphere* 50: 789-793.
11. Das, P., S. Samantaray and G. R. Rout. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98: 29-36.
12. Delauney, A. J. and D. P. S. Verma. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal* 41: 215-223.
13. Eick, M. J., J. D. Peak, P. V. Brady and J. D. Pesek. 1999. Kinetics of lead absorption/desorption on goethite: residence time effect. *Soil Sciences* 164: 28-39.
14. Fan, K. C., H. C. Hsi, C. W. Cheng, H. L. Lee and Z. Y. Hseu. 2011. Cadmium accumulation and tolerance of mahogany (*Swietenia macrophylla*) seedlings for phytoextraction applications. *Journal of Environmental Management* 92: 2818-2822.
15. Farago, M. E. and W. A. Mullen. 1979. Plants which accumulate metals. Part IV. A possible copper-proline complex from the roots of *Armeria maritima*. *Inorganica Chimica Acta* 32: 93-94.
16. Gill, S. S., N. A. Khan and N. Tuteja. 2011. 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.
17. Gouia, H., M. H. Ghorbal and C. Meyer. 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.
18. Hernandez, E. L., E. Lozano-Ridriguez, A. Garate and R. Carpena-Ruiz 2001. Influence of cadmium on the uptake, tissue accumulation and subcellular distribytion of manganese in pea seedling. *Plant Science* 132: 139-151.
19. Kim, Y. Y., Y. Yang and Y. Lee 2002. Pb and Cd uptake in rice roots. *Plant Physiology* 116: 368-372.
20. Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method: 56-97. In: Helebust, J. A. and J. S. Craig, (Eds.). Handbook of Physiological Method. Cambridge Univ. Press. Cambridge.
21. Kumar, P. B., V. Dushenkov, H. Motto and I. Raskin 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soil. *Environmental Science and Technology* 29: 1232-1238.
22. Lasat, M. M. 2000. Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Journal of Hazardous Substance Research* 2: 5-29.
23. Malecka, A., W. Jarmuszkiewicz, and B. Tomaszewska. 2001. Antioxidative defense to lead stress in subcellular

- compartments of pea root cells. *Acta Biochimica polonica* 48: 687-698.
24. Mehta, S. K. and J. P. Gaur. 1999. Heavy metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytologist* 143: 253-259.
 25. Mejare, M. and L. Bulow. 2001. Metal binding proteins and peptides in bioremediation and hystoremediation of heavy metals. *Trends in Biotechnology* 19: 67-73.
 26. Moya J. L., R. Ros and I. Picazo. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynthesis Research* 36: 75-80
 27. Nedjimi, B. and Y. Daoud. 2009. Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. *Schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora* 204: 316-324.
 28. Nikolic, N., D. Kojic, A. Pilipovic, S. Pajevic, B. Krstic, M. Borisev and S. Orlovic. 2008. Responses of hybrid poplar to cadmium stress: Photosynthetic characteristics, cadmium and proline accumulation, and antioxidant enzyme activity. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50(2): 95-103.
 29. Parta, M., N., Bhowmik, B. Bandopadhyay and A. Sharma. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 52: 199-223.
 30. Pivetz, B. E. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous sites, Ground Water Issue, EPA/540/S-01/500. 59 p.
 31. Sanita, L. and R. Gabbrielli 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105-130.
 32. Schat, H., S. Sharma and R. Vooijs. 1997. Heavy metal induced accumulation of free proline in a metal tolerant and non tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 101: 477-482.
 33. Shanti, S. S. and K. J. Dietz. 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.
 34. Sharma, P. and R. S. Dubey 2004. Ascorbate peroxide from rice seedling. *Plant Science* 167: 541-550.
 35. Sun, Q., Z. H. Ye, X. R. Wang and M.H. Wong. 2007. Cadmium hyperaccumulation leads to an increase of glutathione rather than phytochelatins in the cadmium hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Journal of Plant Physiology* 164: 1489-1498.
 36. Sheoran, I. S., H. R. Singal and R. Singal 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.
 37. Verma, S. and R. S. Duby. 2001. Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of metabolism in rice. *Biologia Plantarum* 1: 117-123.
 38. Yang, X., V. C. Baligor, D. C. Mantest and R. B. Clark. 1996. Plant tolerance to nickel toxicity: Influx, transport and accumulation of nickel in four species. *Journal of Plant Nutrition* 19: 73-85.
 39. Zhang, G., M. Fukami and H. Sekimoto. 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.