

## بررسی پتانسیل گیاهان مورد (*Myrtus communis*) و کاج (*Pinus brutia*) در جذب کادمیوم

اصغر مصلح‌آرانی\*<sup>۱</sup>، مهری خسروی<sup>۲</sup>، حمیدرضا عظیم‌زاده<sup>۳</sup>، حمید سودایی‌زاده<sup>۴</sup>، اصغر سپه‌وند<sup>۵</sup>

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

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

hsodaie@yazd.ac.ir

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

sapahvand@yahoo.com

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 (*Myrtus communis*) و کاج (*Pinus brutia*)، 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 کاررفته 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. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد می‌توان گیاه مورد را با توجه به انتقال و انباشت مقدار زیاد کادمیوم در برگ‌ها، به‌منزله گیاه بیش‌انباشت‌کننده معرفی و در خاک‌های آلوده به کادمیوم به‌منزله گونه گیاه استخراجی استفاده کرد.

### کلیدواژه

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

### ۱. سرآغاز

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 مرستمی 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 منتشر می‌شود. منابع مختلف شامل صنایع، فاضلاب شهری و مواد سوختی غلظت این آلاینده را افزایش می‌دهند. همچنین، استفاده از کودهای شیمیایی، مخصوصاً فسفات‌ها مقدار این عنصر را در خاک افزایش می‌دهد (Baryla, et al., 2001; Mejare and Bulow, 2001). کادمیوم برای رشد گیاه

از طرف دیگر گونه‌های مختلف گیاهی می‌توانند به‌منزله 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 انباشته 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, 2001). گیاهان مورد استفاده در گیاه‌پالایی باید بتوانند مقدار زیادی از فلز سنگین را انباشت کنند، همچنین به حضور فلز سنگین در خاک بردبار باشند و توانایی تولید زیتوده بالا در خاک آلوده را داشته باشند (McGrath, et al., 2002). در سال‌های اخیر، بررسی‌های گیاه‌پالایی بر گیاهان بیش‌انباشت‌کننده که توانایی انباشت مقدار زیادی از فلزات را دارند، متمرکز شده است (Doumet, et al., 2008). تحرک و قابلیت جذب عناصر سنگین با مکانیسم‌های جذب و دفع که به ویژگی‌های خاک بستگی دارد، کنترل می‌شود. ارتباط تعادلی بین مقدار ماده جذب‌شده در هر واحد جرم جاذب (x) و غلظت تعادل ماده جذب‌شده در محلول (C) در دمای مشخص «ایزوترم جذب» نامیده می‌شود (Langmuier, 1996). در این زمینه معادلات مختلفی وجود دارند که می‌توان به فرندلیچ و لانگمیر اشاره کرد. هر کدام به نوعی سعی در بیان رابطه

کاروتنوئیدها در گیاهان آلی (Sanita and Gabrielli, 1999 و Sheoran, et al., 1990) 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 غیر آنزیمی (مانند گلوکاتایون، اسکوریات، کاروتنوئیدهای توکو فرار و پرولین) استفاده می‌کنند (Shanti and Dietz, 2006). در بین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی 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 تنش شوری، غرقابی و سرما نیز گزارش شده است (Verma and Duby, 2001). در گیاه Duckweed که یکی از گیاهان آبی 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 یافتند (John, et al., 2009). در آرابیدوپسیس افزایش غلظت پرولین و گلوکاتایون 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 نیمه‌سبز و کاشت بذر در پاییز صورت می‌گیرد (جزیره‌ای، ۱۳۸۴).

### 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 ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از مواد بالا ساخته شد. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. گلدان‌های مورد نظر طی ۷۰ روز از اوایل تابستان از طریق محلول‌های تهیه‌شده به اندازه‌های مساوی آبیاری شدند.

اندازه‌گیری مقدار پرولین: ۰/۵ گرم از برگ گیاهان توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده، سپس نمونه‌ها صاف شد. آنگاه ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر 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 یخ قرار گرفتند. آنگاه به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و لوله‌ها، خوب تکان داده شدند. سپس، میزان جذب لایه رنگی بالایی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates, et al., 1973).

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول: برای سنجش قندهای محلول، ۱۰ میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر از محلول

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

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

## ۲. مواد و روش بررسی

### ۱.۲. 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. ازدیاد

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،  $K$  بیان‌کننده انرژی پیوندی سطح جاذب،  $C$  غلظت تعادلی کادمیوم در محلول خاک و  $x$  مقدار کادمیوم جذب‌شده 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 هم‌حرارت جذب لانگمویر، ابتدا از خاک مورد استفاده در گلدان‌های کاج و مورد نمونه همگنی تهیه شد. نمونه خاک در آن 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، سوسپانسیون 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 گلوکز، 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 خشک‌شده 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 دادند تا نمونه‌های گیاهی به خوبی در اسید حل شوند. پس از آن محلول حاصل ا 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 مدل novAA300 سنجش شد. داده‌های حاصل با نرم‌افزار Spss (Version ۱۴) و با استفاده از آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

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

#### ۴. نتایج

غلظت 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).

با افزایش غلظت کادمیوم میزان پرولین در کاج افزایش یافت (جدول ۱). کادمیوم به ویژه در غلظت 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 غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر پرولین کاج نسبت به غلظت 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 <sup>a</sup>	۱۱۰±۹ <sup>a</sup>	۴/۹±۱ <sup>a</sup>	۱۳/۳±۱/۱ <sup>ab</sup>	شاهد
۷۷/۵±۷ <sup>a</sup>	۱۲۲±۸ <sup>a</sup>	۵/۷±۱/۲ <sup>a</sup>	۸/۷±۱/۵ <sup>ab</sup>	۲۰۰
۸۷/۹±۵/۵ <sup>a</sup>	۱۲۲±۸ <sup>a</sup>	۳/۷±۰/۹ <sup>a</sup>	۲۴/۸±۱/۸ <sup>b</sup>	۵۰۰
۱۴۰±۱۰ <sup>a</sup>	۱۳۲±۱۰ <sup>a</sup>	۵/۱±۱ <sup>a</sup>	۱۶/۸±۱/۶ <sup>b</sup>	۱۰۰۰
جذب در ریشه (ppm)		انباشت در برگ (ppm)		تیمار (ppm)
مورد	کاج	مورد	کاج	
۰/۴±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۳/۳±۰/۵ <sup>a</sup>	۰/۴±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۲/۱±۱ <sup>a</sup>	شاهد
۱۹/۸±۲/۵ <sup>a</sup>	۹۵/۸±۴/۵ <sup>a</sup>	۱۵/۸±۲/۵ <sup>a</sup>	۱۲/۵±۲/۵ <sup>a</sup>	۲۰۰
۴۲۸±۱۸/۵ <sup>a</sup>	۳۱۶±۱۶/۵ <sup>a</sup>	۴۱±۴/۵ <sup>a</sup>	۱۰/۴±۲/۱ <sup>b</sup>	۵۰۰
۵۹۴±۱۹/۵ <sup>a</sup>	۴۸۰±۱۶/۵ <sup>a</sup>	۱۷۸±۱۱/۵ <sup>a</sup>	۲۹/۷±۳/۱ <sup>b</sup>	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.

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

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

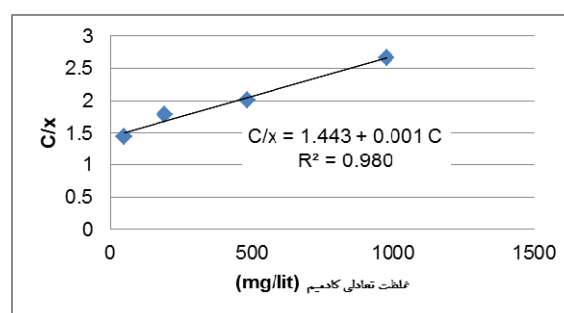
### ۵. بحث

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 ترکیب شدن 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 کیلات کردن 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 کیلات کردن 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 پیروولین-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 و ۱۰۰۰ تفاوت‌ها معنی‌دار بود. در مقابل تفاوت معنی‌داری در میزان قندهای 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 مراتب بیشتر از برگ‌ها بود. بالاترین میزان تجمع یون کادمیوم در ریشه کاج در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۴۸۰ ppm بود که فقط ۲۹ (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 ۱۷۷/۹۷ (۳۰ درصد) آن به برگ‌ها منتقل شد (جدول ۱).

بررسی نتایج آزمون هم‌حرارت‌های جذب لانگمویر نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم در محیط خاک تحت آزمایش تا حد ماکزیمم 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 مکانیسم‌های متفاوتی در برابر کادمیوم استفاده می‌کند. در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پرولین کاج نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم کاهش جزئی نشان داد. این موضوع می‌تواند به تأثیر سمیت کادمیوم در غلظت‌های بالا بر متابولیسم پروتئین‌ها مربوط باشد. مشابه این موضوع در مطالعه اثر کادمیوم در تجمع میزان پرولین در ۲ گیاه هویج و کلم نشان دادند که با افزایش این عنصر در محیط کشت میزان پرولین افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت، اما افزایش غلظت کادمیوم بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، کاهش نشان می‌دهد (Chen, et al., 2003).

با افزایش غلظت کادمیوم میزان قندهای محلول در گیاه مورد افزایش یافت. کادمیوم با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و در نتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی از جمله مسیر متابولیسم قند منجر می‌شود. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها به علت تجمع کادمیوم در سلول‌ها محتوای قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. 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 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 (Verma and Duby, 2001). مشابه این نتایج در بررسی اثر کادمیوم در قندهای محلول و آنزیم‌های

(Delauney and Verma, 1993 و Ali, et al., 2001). Sharma و Pandey (۲۰۰۲) نشان دادند که نیکل، کبالت و کادمیوم سبب تجمع پرولین می‌شوند 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 می‌شود نسبت داده‌اند. پرولین می‌تواند در حکم آنتی‌اکسیدان عمل کند و با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید خطر رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد و سبب حفظ تمامیت غشاها شود (Mehta and Gaur, 1999). Alia and Saradhi, 1991). مشابه این نتایج روی گیاه *Groenlandia densa* نشان داد که میزان پرولین با افزایش غلظت کادمیوم به طور تدریجی افزایش یافت (Parlak and Yilmaz, 2011). بیشترین میزان پرولین در غلظت ۲۰ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم 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 been*) 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 لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) (Zengin and Munzuroglu, 2005) نیز تحت تأثیر کادمیوم گزارش شده است. کادمیوم 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

متابولیسمی 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 تثبیت  $\text{CO}_2$  و کاهش قندها شوند، اما اثر عامل اول خیلی بیشتر از تأثیر منفی آن است، لذا قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. 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 (۱۳۸۵) در بررسی اثر کادمیوم در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، 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 (۱۳۸۵) در بررسی اثر کادمیوم کلرید روی دانه‌رست‌های عدس به دست آمد.

انباشتگی یون کادمیوم در ریشه کاج و مورد با افزایش غلظت کادمیوم افزایش معنی‌داری یافت به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان انباشت آن در ریشه مورد برابر با ۵۹۳/۹ ppm و در گیاه کاج برابر با حدود ۴۸۰ ppm اندازه‌گیری شد. این میزان انباشت 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

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  $\text{COO}^-$  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* نشان داده شد که واکوئل‌ها و 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 به این عنصر برای امر گیاه تثبیتی استفاده کرد (Wojcik, et al., 2005). 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 انباشتگی این عنصر در ریشه و برگ‌ها افزایش یافت به طوری که میزان آن در ریشه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به ۷۰۰ 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 (۲۰۱۱) در



بیشترین میزان انتقال کادمیوم نیز در گیاه مورد به میزان ۱۷۷/۹۷ ppm مشاهده شد. طبق تعریف یک بیش‌انباشت‌کننده باید حداقل قادر به انباشت ۱۰۰ ppm یا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۰/۰۱ درصد وزن خشک) کادمیوم و برخی فلزات ردیابی‌شده دیگر، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۰/۱ درصد وزن خشک) کبالت، مس، کروم، نیکل و سرب و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱ 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 انباشت حدود ۱۷۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم می‌تواند به‌منزله گیاه بیش‌انباشت‌کننده معرفی و در خاک‌های آلوده به‌منزله گیاه استخراجی استفاده شود.

بررسی اثر کادمیوم روی گونه *Swietenia macrophylla*، مطالعات Nikolic و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر کادمیوم در گونه‌های هیبرید تبریزی، مطالعه علی‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی تأثیر بهبود شرایط خاک در پاسخ‌های انباشت فلز کادمیوم در نهال‌های یک‌ساله صنوبر (*Populus alba*)، مطالعات Kadukova و همکاران (۲۰۰۶) روی *Nerium oleander* Kovacevic و همکاران (۱۹۹۹) و روی دو گونه *Triticum aestivum* و *T.durum* Linger و همکاران (۲۰۰۵) روی *Cannabis sativa* Ekmekci و همکاران (۲۰۰۸) روی ذرت، Sharma و Pandey (2002) روی *Cabbage* نتایج مشابهی به دست آمد. در تحقیق حاضر بیشترین نسبت انتقال کادمیوم از ریشه به برگ در گیاه مورد به میزان ۳۰ درصد مشاهده شد.

## منابع

- آفتاب‌طلب، ن. ۱۳۸۶. «بررسی توان پالایش دو عنصر سمی کادمیوم و سرب به‌وسیله 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.
- خداکریمی، 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؛ قربانلی، م؛ منوچهری کلانتری، خ. ۱۳۸۵. «اثر کادمیوم در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)»، *مجله زیست‌شناسی ایران*، ۲: ۱۳۶-۱۴۵.
- شریعت، آ؛ عصاره، م. ح؛ قمری‌زارع، 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، ثوابی فیروزآبادی، غ؛ اعتماد، و. ۱۳۹۰. «تأثیر بهبود شرایط خاک در پاسخ‌های انباشت فلز کادمیوم در نهال‌های یک ساله صنوبر (*Populus alba* L.)»، *مجله جنگل ایران*، انجمن 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 Biologica Cracoviensia 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 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, 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 *Thalaspia 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 Biologica 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.