

بررسی میزان تجمع کادمیوم و سرب در گیاه دارویی همیشه بهار (*alis Calendula officin*)

سمیرا اسکندری^۱، مهرباب یادگاری^{۱*}، رامین ایرانی پور^۲

^۱گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
^۲مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۱

چکیده

فلزات سنگین از جمله مهمترین آلاینده‌های زیست محیطی هستند که در تمام جوامع صنعتی یافت می‌شوند. برای اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، روشی به نام گیاه‌پالایی وجود دارد. به منظور بررسی پتانسیل پالایش گیاه همیشه بهار به فلزات سنگین سرب و کادمیوم و اثر آن‌ها بر رشد، عملکرد و سایر صفات زراعی این گیاه، آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی در مرکز تحقیقات سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری شهرکرد در سال ۱۳۹۵ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل کادمیوم در چهار سطح (۰، ۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک) و سرب در چهار سطح (۰، ۴۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک) بود. نتایج نشان داد که سطوح مختلف سرب و کادمیوم، تأثیر معنادار بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه همیشه بهار داشت. وزن خشک بخش هوایی و ریشه و تجمع کادمیوم و سرب در گیاه و خاک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. با افزایش غلظت فلزات، مقدار وزن خشک ریشه و بخش هوایی به طور معنادار نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. با افزایش غلظت کادمیوم، میزان انباشت کادمیوم در گیاه و میزان کادمیوم قابل جذب خاک افزایش یافت و کادمیوم ضمن حرکت به بخش‌های هوایی همراه با سرب بیشتری به بخش‌های هوایی منتقل شد. مشخص شد که گیاه همیشه بهار گیاهی بیش‌انباشت‌گر است که قادر به انباشت فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بخش‌های مختلف گیاه به خصوص بخش هوایی است. آستانه تحمل گیاه تا تیمار تحت آلودگی ترکیبی کادمیوم پنج (میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب ۲۵۰ (میلی‌گرم در کیلوگرم) بود و پس از آن در اکثر صفات مورد بررسی روند نزولی دیده شد. به نظر می‌رسد اثرات منفی این فلزات به خصوص کادمیوم، غالباً به دلیل اثر بر فتوسنتز گیاهی، می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آستانه تحمل، سرب، کادمیوم، گیاه‌پالایی، همیشه بهار.

مقدمه

نامیده می‌شود. پاکسازی محیط به صورت درجا^۱، با کمترین دست خوردگی خاک قابل انجام است و اثرات جانبی خاصی ندارد. در این روش از گیاهان بیش‌انباشتگر که قادر به تحمل غلظت‌های بسیار بالای عناصر فلزی می‌باشند، استفاده می‌شود (Abdel-Salam et al., 2015). از جمله گیاهان بیش‌انباشتگر،

بهره‌گیری از گیاهان برای استخراج فلزات سنگین از خاک، روشی نو و امیدبخش برای بهسازی خاک‌های آلوده می‌باشد و اصطلاحاً گیاه‌پالایی^۲

*نویسنده مسئول: mehrabyadegari@gmail.com

آن با گروه‌های تیول در آنزیم‌های پروتئین‌ساز است که به صورت طبیعی همراه با عنصر روی یافت می‌شود (Rodriguez et al., 2008; Shi et al., 2009).

فلز سرب یکی دیگر از عناصر سنگین است که بالا رفتن غلظت آن، سمیت شدیدی ایجاد می‌کند. با توجه به خطرات محیطی سرب و کادمیوم و احتمال جذب و ورود این عناصر به زنجیره غذایی و تهدید سلامت انسان‌ها، موضوع استفاده از گیاهان به منظور پالایش این عناصر از محیط زیست و خروج این عناصر از خاک در دهه‌های اخیر به شدت مورد توجه قرار گرفته است (Safari Sinangani and Khalilikhah, 2011; Vodyanitskii, 2016).

از اهداف این آزمایش بررسی میزان تأثیر این گیاه در پالایش آلودگی ناشی از فلزات سنگین سرب و کادمیوم و نیز اثرات این فلزات بر خصوصیات رشدی همیشه بهار بود. در این تحقیق، میزان و نحوه پراکنش فلزات کادمیوم و سرب در خاک و گیاه مورد مطالعه و مقدار انتقال این عناصر از خاک به گیاه تعیین شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل دو عامل در ۴ تکرار و جهت فراگیر بودن نتایج در شرایط مزرعه اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل فلز سنگین کادمیوم در سطوح ۰، ۵، ۲۵، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک و فلز سنگین سرب در سطوح ۰، ۴۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک بودند. این آزمایش به صورت کشت گلدانی (مجموعاً ۶۴ گلدان)، در بهار و تابستان سال زراعی ۱۳۹۴ در مزرعه‌ی تحقیقاتی سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری شهرکرد انجام شد. موقعیت جغرافیایی منطقه، ۵۰ درجه و ۵۶ دقیقه شرقی و ۳۲ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی بود. بذره‌ای همیشه‌بهار رقم قزوین از شرکت پاکان بذر اصفهان

می‌توان به همیشه بهار، از تیره کاسنی (Compositae) اشاره نمود که گل‌های بدون کاسبرگ آن در فارماکوپه‌ها به‌عنوان دارو معرفی شده‌اند و دارای کارتنوئید، فلاونوئید، ترپنوئید، کومارین، کوئینون و اسیدهای آمینه بوده (Khalid and Teixeira da Silva, 2012; Dada et al., 2012; Yadegari, 2015; Anderson, 2013; Garcia-Risco et al., 2017). رنگدانه‌های کارتنوئید، جزء اصلی مواد دارویی هستند (Bunghuez and Mariana Ion, 2011). خاستگاه اصلی این گیاه در حوزه دریای مدیترانه، خاورمیانه و اروپای مرکزی می‌باشد. این گیاه توانایی بالایی در پالایش زمین از فلزات سنگین را داراست (Borghai et al., 2009; Chhotu et al., 2011).

آلودگی ناشی از حضور فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی، یکی از مهمترین مشکلات اکولوژیک در سطح جهان است. مشکل اصلی مربوط به فلزات سنگین آن است که این آلاینده‌های غیرآلی بر خلاف آلاینده‌های آلی تجزیه‌پذیر نمی‌باشند. این واقعیت، فلزات سنگین را به یکی از خطرناک‌ترین گروه آلاینده‌های زیست‌محیطی تبدیل کرده است (Agrawal and Sharma, 2006; Vodyanitskii, 2016). فلزات سنگین ممکن است منجر به تغییراتی در فرآیندهای فیزیولوژیکی در سطح سلولی و مولکولی شوند که در نتیجه غیرفعال کردن آنزیم و یا مسدود کردن گروه‌های عملکردی مولکول‌های مهم مسئول سوخت و ساز باشد (Moosavi and Seghatoleslami, 2013; Yang et al., 2012; Jabeen et al., 2009). در بین فلزات سنگین، فلز کادمیوم به دلیل تحرک و پویایی زیاد در خاک و جذب توسط گیاه، دارای اهمیت خاصی می‌باشد (Khatamipour et al., 2011; John et al., 2009). کادمیوم و روی از نظر شیمیایی بسیار مشابه هستند، بنابراین کادمیوم می‌تواند جایگزین روی در انجام وظایف متابولیسمی شود. علت اصلی سمیت کادمیوم احتمالاً میل ترکیبی شدید

داخل پاکت‌های کاغذی در داخل آون و در دمای ۷۵ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک و در نهایت، وزن خشک بخش هوایی و زمینی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سرب و کادمیوم موجود در بخش هوایی گیاه: از پودر تهیه شده از نمونه‌های گیاهی خشک شده، خاکستر تهیه و از آن برای اندازه‌گیری سرب و کادمیوم موجود در بخش‌های هوایی نمونه‌های گیاهی استفاده شد (Davari et al., 2010).

اندازه‌گیری میزان کادمیوم و سرب بافت گیاه: میزان کادمیوم و سرب بافت گیاهی توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Davari et al., 2010).

اندازه‌گیری میزان کادمیوم و سرب خاک: برای اندازه‌گیری غلظت قابل جذب فلزات سنگین در خاک از عصاره‌گیر دی‌اتیلن تری‌آمین پنتا استیک اسید به همراه کلرید کلسیم و تری اتانول آمین، استفاده شد. سپس غلظت فلزات سنگین به وسیله‌ی دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Davari et al., 2010).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS ver.8 و مقایسه میانگین داده‌ها به روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 رسم گردید.

تهیه و مورد کشت قرار گرفتند. بعد از آزمون خاک، عناصر مورد نیاز پرمصرف و کم‌مصرف، به خاک اضافه شدند. برای آماده‌سازی خاک گلدان‌ها (با ظرفیت ۱۰ کیلوگرم)، نمونه برداشته شده از خاک مزرعه، در برابر هوا خشک و به کمک چکش پلاستیکی کوبیده و از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شد. از خاک جمع‌آوری شده در زیر الک برای آزمایش تجزیه خاک استفاده شد (Diaconu et al., 2012).

مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در جدول ۱ آورده شده است. پس از انجام تجزیه‌ی خاک، برای آلوده کردن خاک، مقادیر محاسبه شده نمک فلزات سنگین به صورت کلرور کادمیوم و کلرور سرب، به صورت محلول و با استفاده از اسپری بر خاک اعمال و با خاک مخلوط شد. برای برقراری تعادل، به خاک تیمار شده حداقل به مدت دو هفته استراحت داده شد و در معرض تناوب‌های تر و خشک شدن قرار گرفت که تا حد ممکن واکنش‌های بین فلزات سنگین و خاک، رخ دهد و شرایط آلودگی به شرایط طبیعی نزدیکتر شود.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام‌های مختلف: گیاهان به مدت تقریبی سه ماه در گلدان ماندند و در اوایل گل‌دهی همراه با ریشه از خاک جدا شدند و پس از شستشو با آب مقطر، هر گیاه به بخش‌های هوایی و زمینی تقسیم شده، وزن تر هر کدام از آن‌ها به صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در

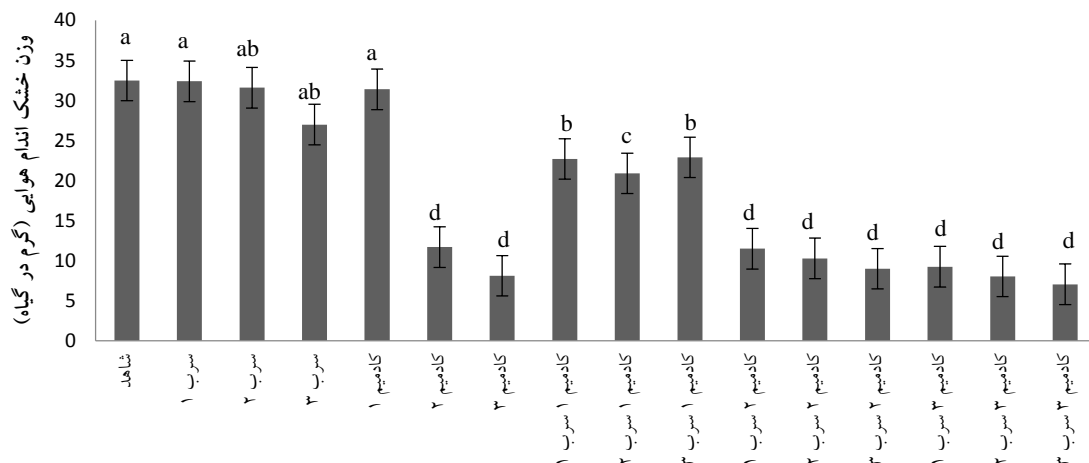
جدول ۱: مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی	کربن آلی	اسیدیته	سرب	کادمیوم	فسفر	پتاسیم	نیترژن	روی	منگنز	آهن	مس
دسی‌زیمنس بر متر	درصد						میلی‌گرم بر کیلوگرم				
۰/۹۱۱	۸/۰۴	۰/۳۵۱	۱/۱۲	۰/۹۳	۵/۱	۲۵۷	۰/۰۲۹	۰/۵۵	۷/۳۴	۲/۸۹	۰/۹۶

نتایج

سرب بر وزن خشک بخش هوایی در سطوح یک و پنج درصد معنی دار بود (جدول ۲). این آزمایش بیانگر اثر معنی دار سطوح مختلف غلظت فلزات سنگین کادمیوم و سرب بر صفت وزن خشک بخش هوایی گیاه بود (جدول ۲).

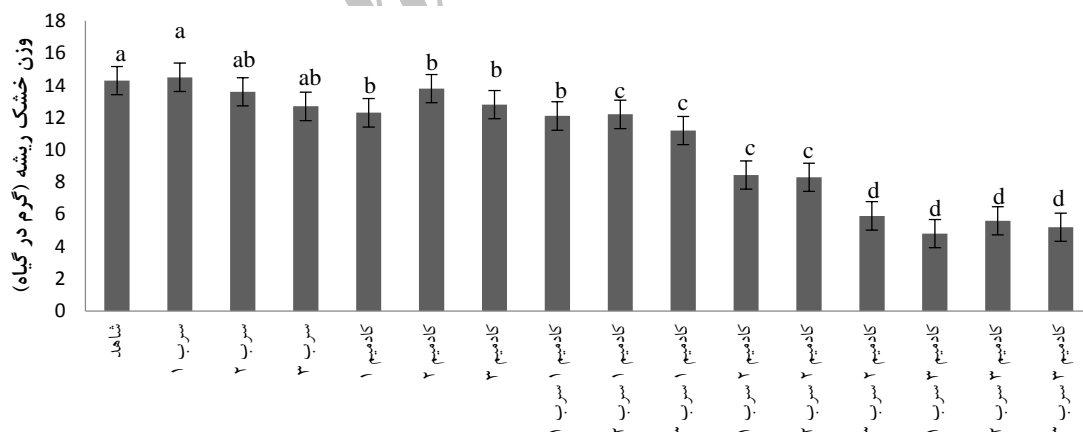
وزن خشک بخش هوایی: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش کادمیوم و سرب بر وزن خشک بخش هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، در حالی که اثر ساده کادمیوم و



شکل ۱: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین‌های وزن خشک بخش هوایی گیاه همیشه بهار

به گیاهان شاهد و کمترین وزن ریشه مربوط به گیاهان تحت تیمار با بیشترین سطوح آلودگی ترکیبی کادمیوم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سرب (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بدست آمد.

وزن خشک ریشه: اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). سرب بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین وزن خشک ریشه مربوط



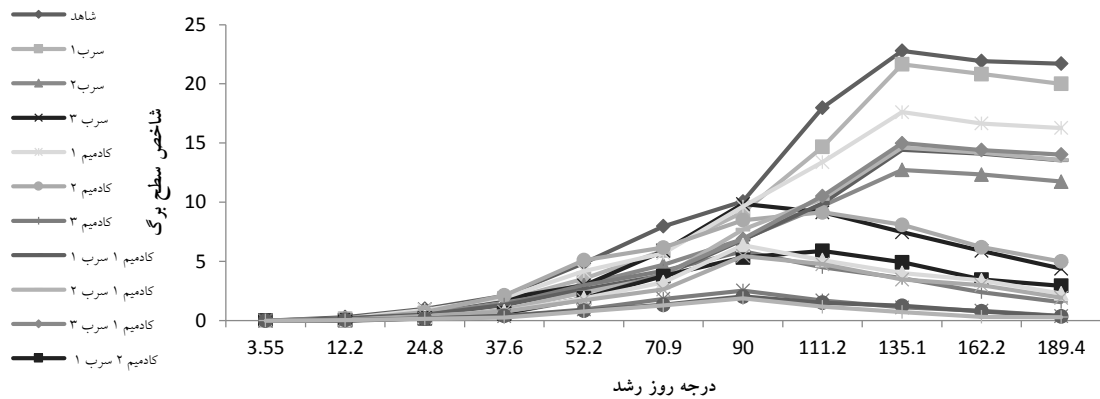
شکل ۲: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین‌های وزن خشک ریشه گیاه همیشه بهار

سرب بر این صفت فیزیولوژیکی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). در گیاهان تحت تیمار ترکیبی کادمیوم (۲۵، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و

شاخص سطح برگ: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش کادمیوم و سرب بر شاخص سطح برگ و نیز اثرات ساده کادمیوم و

سطح برگ در گیاهان تحت تیمار با غلظت‌های بالای فلزات سنگین، در درجه روز رشد ۹۰ و به میزان تقریبی ۵ بدست آمد (شکل ۳).

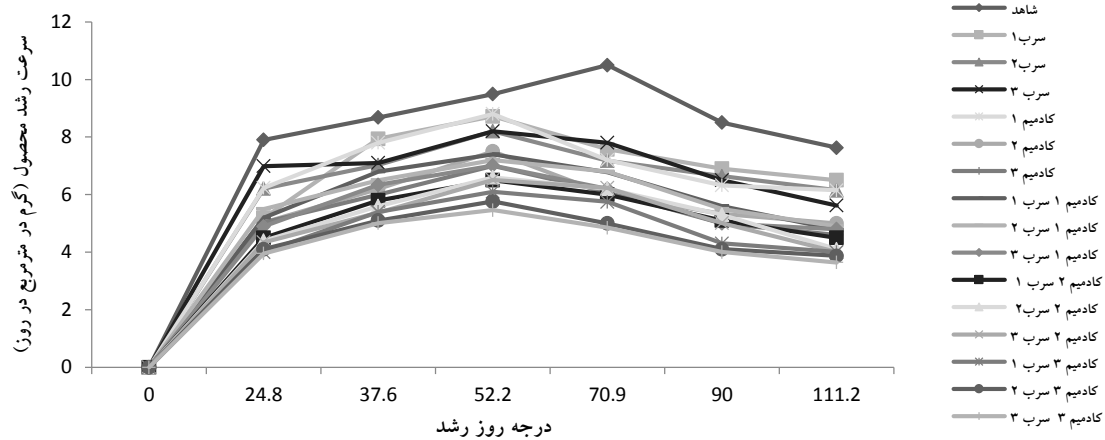
سرب (۴۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و نیز تیمار منفرد کادمیوم (۲۵، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، ریزش برگ‌های پایینی، زردی و تیره شدن برگ‌های گیاه همیشه بهار دیده شد. حداکثر میزان شاخص



شکل ۳: روند تغییرات شاخص سطح برگ در گیاه همیشه‌بهار تحت کادمیوم و سرب

منفرد سرب و تیمار منفرد کادمیوم (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و تیمارهای ترکیبی کادمیوم (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب از سرعت رشد بیشتری (۱۰/۵ گرم بر متر مربع در روز در درجه روز رشد تقریبی ۱۲۰)، نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند، ولی با رسیدن به درجه روز رشد حدود ۱۴۰، روند نزولی در این تیمارها مشاهده شد (شکل ۴).

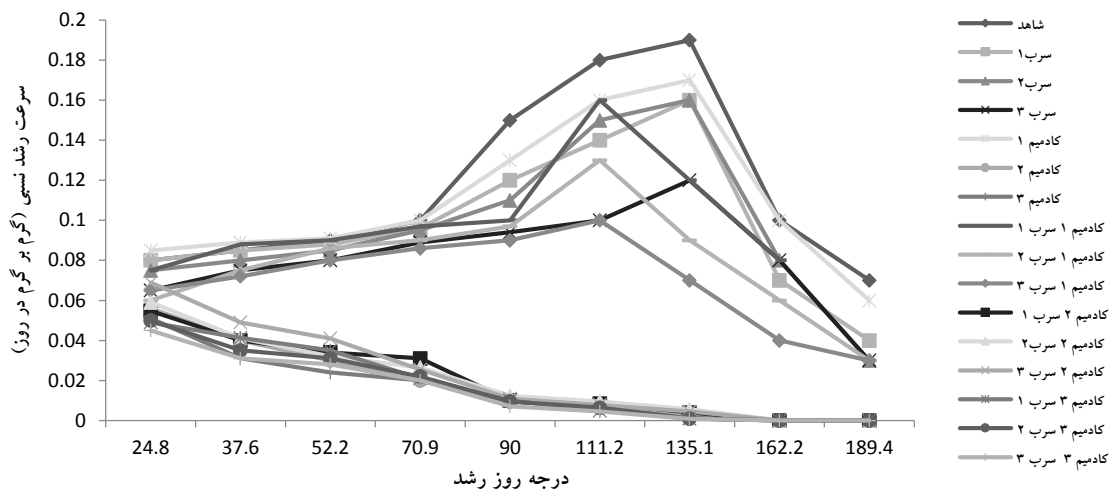
سرعت رشد محصول: تجزیه واریانس اطلاعات برآمده از این تحقیق نشانگر آن است که اثر برهمکنش کادمیوم و سرب بر سرعت رشد محصول و نیز اثرات ساده کادمیوم و سرب بر این صفت فیزیولوژیکی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر سرعت رشد محصول در شکل چهار نشان داده شده است. با توجه به این شکل، از ابتدای رشد، تیمار شاهد، تیمارهای



شکل ۴: روند تغییرات سرعت رشد در گیاه همیشه‌بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب.

کادمیوم (۲۰ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)، ترکیبی کادمیوم (۲۰، ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و سرب (۴۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) تغییرات سرعت رشد نسبی، در ابتدا به مقدار اندکی افزایش (۰/۱۱) گرم بر گرم ماده خشک گیاه در روز در درجه روز رشد (۱۳۵/۱) و سپس نزولی بود و مرتب با گذشت زمان کاهش یافت (شکل ۵).

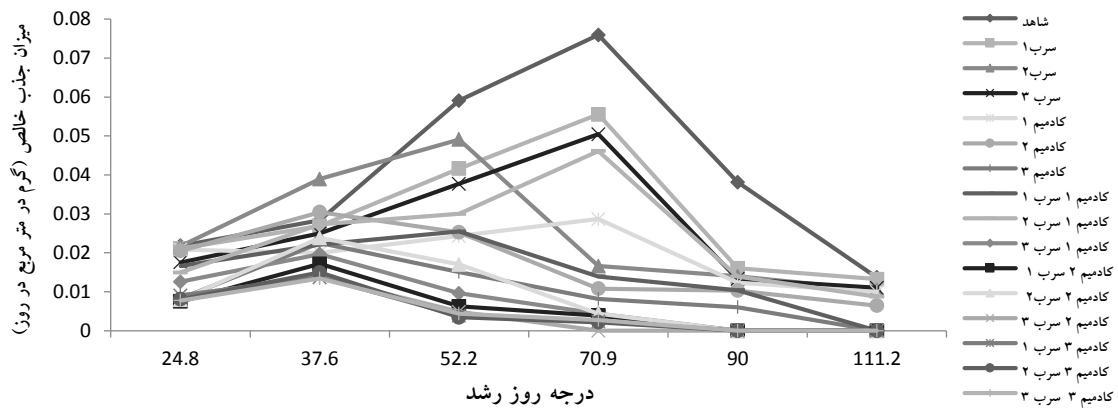
سرعت رشد نسبی: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش کادمیوم و سرب بر سرعت رشد نسبی و نیز اثرات ساده کادمیوم و سرب بر این صفت فیزیولوژیکی در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر شاخص سطح برگ در شکل پنج نشان داده شده است. با توجه به این شکل، در تیمارهای منفرد



شکل ۵: روند تغییرات سرعت نسبی رشد در گیاه همیشه بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب.

داشت. اثرات کادمیوم و سرب بر میزان جذب خالص در شکل شش نشان داده شده است. بیشترین میزان جذب خالص در تیمار شاهد و غلظت ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک سرب، در درجه روز رشد (۱۳۵/۱) به میزان تقریبی ۰/۰۷ گرم در مترمربع در روز، بدست آمد (شکل ۶).

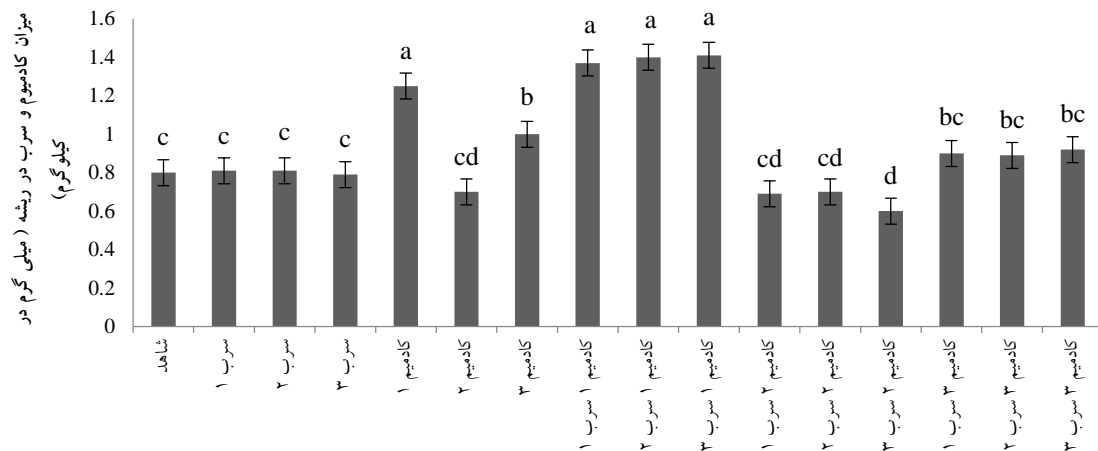
میزان جذب خالص: نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که اثرات ساده و نیز برهمکنش کادمیوم و سرب بر میزان جذب خالص در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). میزان جذب خالص در گیاهان تحت تیمارهای ترکیبی کادمیوم (۲۰ و ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و سرب (۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) از لحاظ مقادیر کمتر و روند نزولی تری



شکل ۶: روند تغییرات میزان جذب خالص در گیاه همیشه بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب

اثرات منفرد و متقابل کادمیوم و سرب گروه بندی‌های متفاوتی دیده شد به طوری که در دسته بندی میانگین تیمارهای اعمال شده دستجات مختلفی دیده شد. دامنه‌ی تغییر مقدار کادمیم در ریشه از 0.8 mg/kg تا 1.41 mg/kg متفاوت بود (شکل ۷).

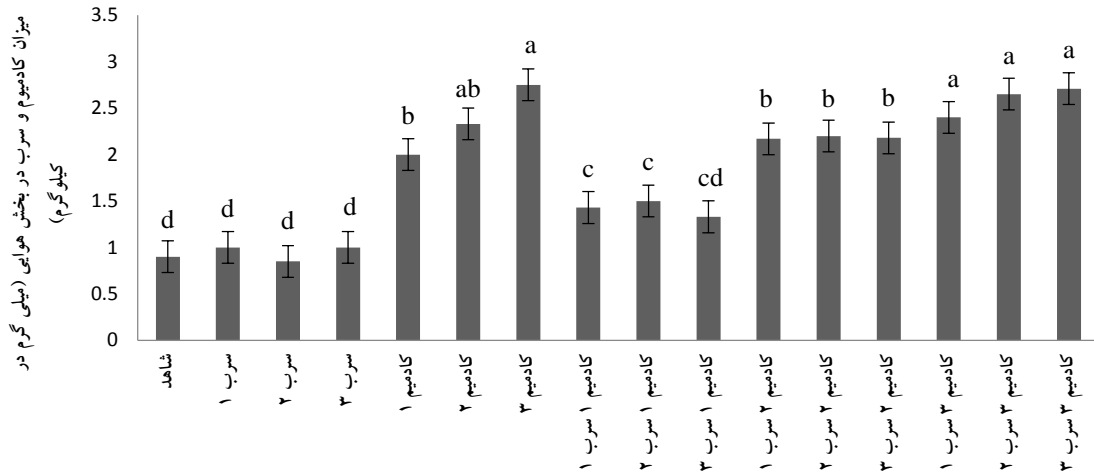
مقدار کادمیوم و سرب در ریشه: برهمکنش کادمیوم و سرب در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کادمیوم و سرب در ریشه گیاهان، معنی دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر میزان تجمع این فلزات در ریشه در شکل هفت نشان داده شده است. در بین



شکل ۷: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین های کادمیوم و سرب در ریشه گیاه همیشه بهار

سرب گروه بندی‌های متفاوتی دیده شد. دامنه تغییر تجمع کادمیم در بخش هوایی از 0.9 mg/kg در کیلوگرم تا 2.65 mg/kg در کیلوگرم متفاوت بود. به طوری که در دسته بندی میانگین تیمارهای اعمال شده دستجات مختلفی دیده شد (شکل ۸).

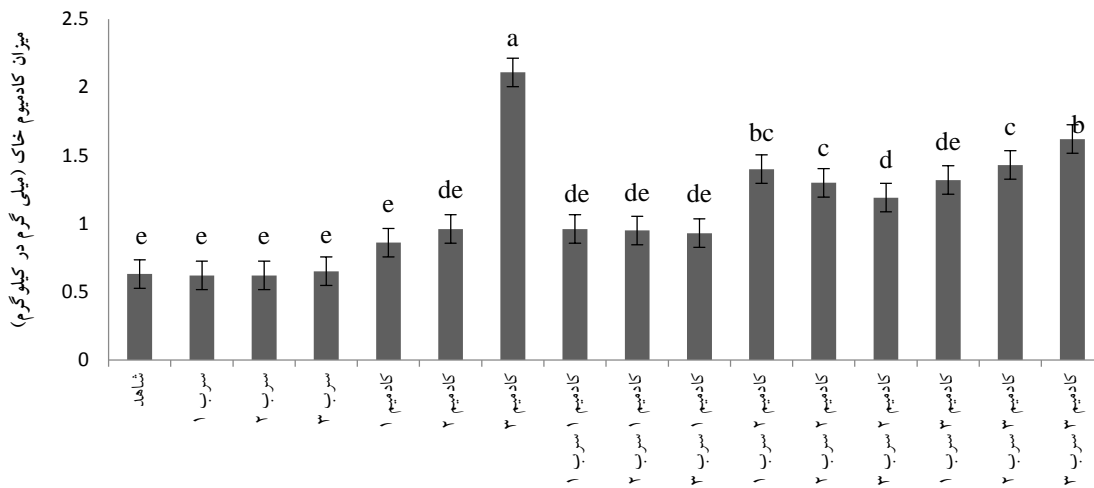
مقدار کادمیوم و سرب در بخش هوایی: برهمکنش کادمیوم و سرب در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کادمیوم و سرب در بخش هوایی گیاهان، معنی دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر میزان تجمع این فلزات در بخش هوایی در شکل هشت نشان داده شده است. در بین اثرات منفرد و متقابل کادمیوم و



شکل ۸: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین‌های کادمیوم و سرب در بخش هوایی گیاه همیشه بهار

کیلوگرم) و سرب خاک (۳/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در بالاترین گروه‌های آلودگی بوجود آمد، هرچند در مورد بالاترین سطح سرب، ترکیب ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب و ۵ میلی‌گرم کادمیوم نیز با ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب در یک گروه قرار گرفت (شکل ۹ و ۱۰).

مقدار کادمیوم و سرب در خاک: اثر متقابل کادمیوم و سرب در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کادمیوم و سرب در خاک معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر میزان تجمع این فلزات در خاک در اشکال نه و ده نشان داده شده است. در بین اثرات کادمیوم و سرب گروه‌بندی‌های متفاوتی دیده شد. بالاترین میزان کادمیوم خاک (۲/۱۱ میلی‌گرم در



شکل ۹: تأثیر کادمیوم و سرب بر میزان کادمیوم در خاک گروه‌های تیماری پس از برداشت گیاهان

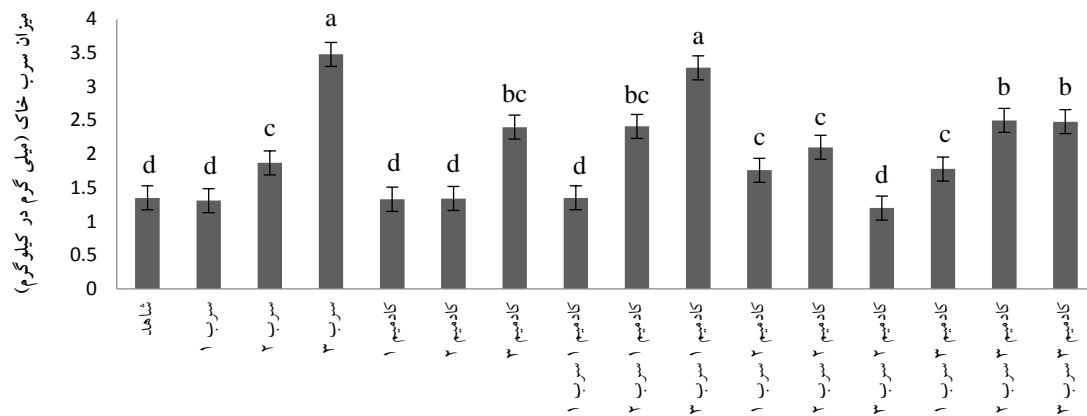
جدول ۲: تجزیه واریانس میانگین مربعات میزان جذب خالص، سرعت رشد نسبی، سرعت رشد محصول، شاخص سطح برگ، وزن خشک بخش هوایی و ریشه؛ میزان سرب و کادمیوم در بخش های گیاهی و خاک گیاهان همیشه بهار تحت تیمارهای مختلف کادمیوم و سرب.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک	وزن خشک ریشه	کادمیوم		سرب		میزان جذب-خالص سطح برگ	سرعت رشد	سرعت رشد محصول	شاخص سطح برگ	میزان جذب-خالص سطح برگ	وزن خشک برگ	شاخص سطح برگ	سرعت رشد محصول
				اندام زمینی	اندام هوایی	اندام زمینی	اندام هوایی								
سرب	۳	۲۳/۶۳*	۶/۷۴**	۰/۰۱**	۰/۰۱**	۸/۵**	۹/۲۸**	۸/۷۲**	۷/۶**	۲/۳**	۴/۸۲**	۲/۳**	۲/۳**	۳/۵۷**	۳/۵۷**
کادمیوم	۹	۲۴/۸۷**	۳۹۵/۶*	۲/۱۵**	۱۶/۶۴**	۱/۸۴**	۱/۰۳**	۳/۵۳**	۴۵/۵۱**	۱۲/۱۰**	۳۰/۴۱**	۱۴/۳**	۳۰/۴۱**	۲۲/۵۶*	۲۲/۵۶*
سرب x کادمیوم	۹	۵۹/۹۳**	۲/۵۷ ^{NS}	۰/۰۱**	۰/۰۲**	۰/۱۷*	۰/۴۱**	۲/۰۱**	۸/۷۱**	۱/۳۶**	۴/۳۵**	۲/۴۱**	۴/۳۵**	۳/۹۴**	۳/۹۴**
خطا	۴۸	۸/۹۲	۱/۷۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵
ضرب تغییرات		۱۶/۵	۱۳/۸	۳/۴۲	۲/۶۲	۲/۸	۱۱/۳۲	۵/۷۱	۱۲/۲	۱۱/۸	۱۱/۲	۱۰/۳	۱۱/۲	۱۴/۴	۱۴/۴

جدول ۳: همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده متأثر از سطوح مختلف سرب و کادمیوم.

صفات	وزن خشک ریشه (۱)	وزن خشک اندام‌هوایی (۲)	سرب خاک (۳)	کادمیوم خاک (۴)	سرب ریشه (۵)	کادمیوم ریشه (۶)	سرب اندام هوایی (۷)	کادمیوم اندام هوایی (۸)	میزان جذب خالص (۹)	سرعت رشد نسبی (۱۰)	سرعت رشد محصول (۱۱)	شاخص سطح برگ (۱۲)
۱	۱											
۲	۰/۸۹ ^{**}	۱										
۳	۰/۷۱ ^{ns}	۰/۳۱ ^{ns}	۱									
۴	۰/۷۱ ^{**}	۰/۶۷ ^{**}	۰/۳۰ ^{ns}	۱								
۵	۰/۸۶ ^{**}	۰/۸۶ ^{**}	۰/۷۵ ^{**}	۰/۶۰ ^{**}	۱							
۶	۰/۳۰ ^{**}	۰/۴۴ ^{**}	۰/۷۱ ^{ns}	۰/۳۹ ^{**}	۰/۷۱ ^{ns}	۱						
۷	۰/۶۷ ^{**}	۰/۸۲ ^{**}	۰/۴۹ ^{**}	۰/۶۵ ^{**}	۰/۶۰ ^{**}	۰/۷۱ ^{ns}	۱					
۸	۰/۹۲ ^{**}	۰/۷۰ ^{**}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۶۷ ^{**}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۳۳ ^{ns}	۱				
۹	۰/۷۱ ^{**}	۰/۱۷ ^{**}	۰/۲۰ ^{**}	۰/۵۰ ^{**}	۰/۹۱ ^{**}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۳۱ ^{ns}	۰/۳۰ ^{**}	۱			
۱۰	۰/۲۰ ^{**}	۰/۶۰ ^{**}	۰/۵۰ ^{**}	۰/۶۰ ^{**}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۲۰ ^{**}	۱		
۱۱	۰/۵۷ ^{**}	۰/۶۷ ^{**}	۰/۶۰ ^{**}	۰/۷۰ ^{**}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۶۳ ^{**}	۰/۷۱ ^{ns}	۰/۳۰ ^{**}	۰/۶۵ ^{**}	۰/۷۷ ^{**}	۱	
۱۲	۰/۹۲ ^{**}	۰/۶۷ ^{**}	۰/۷۵ ^{**}	۰/۲۷ ^{**}	۰/۵۲ ^{**}	۰/۵۰ ^{**}	۰/۶۰ ^{ns}	۰/۵۷ ^{**}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۲۷ ^{**}	۰/۹۵ ^{**}	۱

ns و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.



شکل ۱۰: تأثیر کادمیوم و سرب بر میزان سرب در خاک گروه‌های تیماری پس از برداشت گیاهان.

داده شده است. کمترین وزن خشک بخش هوایی (۳۲/۵ گرم) در تیمار ترکیبی کادمیوم (۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و سرب (۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) بدست آمد. همچنین گیاهان با مقادیر بالای آلودگی، وارد دوره گلدهی نشدند.

وزن خشک ریشه: اثرات کادمیوم و سرب بر وزن خشک ریشه در شکل دو نشان داده شده است. کمترین وزن ریشه (۵/۲ گرم) در تیمار ترکیبی کادمیوم (۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) و سرب (۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) بدست آمد که نشانگر تأثیر سمی فلزات سنگین بر ریشه و جلوگیری از رشد است و در نتیجه، میزان جذب آب و یون‌های معدنی کاهش می‌یابد که بواسطه آن کاهش رشد عمومی گیاهان و کاهش وزن شاخساره گیاه می‌باشد (Abdel-Salam et al., 2015; Muriefah, 2008). در سطوح بالای فلزات سنگین به خصوص کادمیوم، ریزش برگ‌های پایینی، زردی و تیره شدن برگ‌ها دیده شد، این امر می‌تواند ناشی از به هم ریختگی ساختار کلروپلاست‌ها، کاهش تعداد گراناها، تیلکوئیدها و تغییر شکل آن‌ها به علت کاهش محتوای آب سلول (Moustakas et al., 2011). جلوگیری از سنتز کلروفیل، درهم ریختن ساختمان کلروپلاست و جلوگیری از ورود دی‌اکسیدکربن (Shi et al., 2009)

همبستگی بین صفات: نتایجی که از ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در تیمارها بدست آمد، نشان دهنده آنست که در اثر افزایش غلظت فلزات سنگین کادمیوم و سرب، میزان وزن خشک بخش هوایی و ریشه کاهش یافت که تأثیر منفی کادمیوم بیشتر از سرب بود. در این خصوص به نظر می‌رسد با توجه به قلیایی بودن خاک و تحرک کمتر، سرب بیشتر در ریشه مانده و کمتر توسط بخش هوایی گیاه جذب می‌شود. بین مقدار فلزات سنگین در خاک با مقدار آن‌ها در بخش هوایی و ریشه گیاه رابطه‌ی مثبت و مستقیم وجود داشت.

بحث

وزن خشک بخش هوایی: تأثیر سرب بر وزن خشک بخش هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود که می‌تواند از دیدگاه فیزیولوژیکی به این دلیل باشد که همراه با مکش آب و مواد غذایی به سوی منابع گیاهی، کادمیوم، به راحتی در درون آوندها حرکت می‌کند (Abdel-Salam et al., 2015)، پس بیشتر به سمت بخش هوایی می‌رود و نسبت به سرب اثر بیشتری بر وزن بخش هوایی دارد. اثرات کادمیوم و سرب بر وزن خشک بخش هوایی در شکل یک نشان

شده باشد تا بتواند حداکثر بهره‌گیری از منابع محیطی را انجام دهد. حداکثر این میزان پس از کاشت، در زمان حداکثر رشد رویشی بوجود آمده است (شکل ۴). **سرعت رشد نسبی**: این شاخص در مراحل اولیه رشد کم بوده و با توسعه سطح برگ و جذب مقادیر بیشتر نورخورشید، میزان آن به حداکثر می‌رسد. با سایه‌اندازی و پیرشدن برگ‌ها وزردشدن آنها، سرعت رشد کاهش می‌یابد (Muriefah, 2008). سرعت رشد نسبی به بهترین شکل، مفهوم رشد را می‌رساند و سرعت تولید را در واحد سطح زمین در زمان مشخص ساخته و اثر متقابل تنفس و فتوسنتز را نشان می‌دهد. ایجاد اختلال در مراحل مختلف انجام فتوسنتز و ساخت کلروفیل به وسیله فلزات سنگین از دلایل اصلی کاهش محتوای کلروفیل و کاهش رشد در گیاهان تحت تیمار با عناصر سنگین است (Manio et al., 2003). اثرات کادمیوم و سرب بر سرعت رشد محصول در شکل چهار نشان داده شده است. با توجه به این شکل، از ابتدای رشد، تیمار شاهد، تیمارهای منفرد سرب و تیمار منفرد کادمیوم (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و تیمارهای ترکیبی کادمیوم (۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب از سرعت رشد بیشتری (۱۰/۵ گرم بر متر مربع در روز در درجه رشد تقریبی ۱۲۰)، نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند، ولی با رسیدن به درجه روز رشد حدود ۱۴۰، روند نزولی در این تیمارها مشاهده شد (شکل ۴)، که می‌تواند به این دلیل باشد که با بیشتر شدن سن گیاه، قسمت زیادی از ساختمان گیاه غیرفعال می‌شود، برگ‌های تحتانی در سایه قرار گرفته و یا به علت پیری قدرت فتوسنتز خود را از دست می‌دهند (Karimi et al., 2012). این امر نشان از اثرگذاری فلزات سنگین روی صفت مورد بررسی می‌باشد و به نظر می‌رسد که در این بین تأثیر کادمیوم به لحاظ سمیت بیشتر است. نتایج تحقیق حاضر با گزارشات صورت پذیرفته در مورد اثرگذاری

کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها (Vassilev et al., 2005)، تغییر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی (Sekara et al., 2005)، اختلال در حرکت پتاسیم و آبنزیک اسید در سلول‌های محافظ روزنه (Moosavi and Seghatoleslami, 2013) کاهش فعالیت هورمون سیتوکنین (Mok, 1994) و بدنبال آن افت هدایت هیدرولیکی ریشه، کاهش رشد ریشه و ساقه (Sahmurova et al., 2010) و کم شدن انبساط سلولی و کاهش جذب آب باشد (Davari et al., 2010; Pirzad and Shokrani, 2012). علائم سمیت سرب در گیاهان به صورت تیره شدن رنگ برگ‌ها، توقف رشد بخش‌های هوایی، کاهش زیست توده و کاهش ساخت کلروفیل بود (Garbisu and Alkorta, 2001). کاهش رشد ناشی از سمیت کادمیم منجر به کاهش ساخت کلروفیل و فتوسنتز (Wang et al., 2009)، تنفس، کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها، کلروز و زردشدن برگ‌ها و قهوه‌ای شدن ریشه (Vassilev et al., 2005)، ریزش برگ‌ها و تغییر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های مهم (Sekara et al., 2005) می‌شود.

شاخص سطح برگ: در بررسی فنولوژیکی این گیاه با توجه به شکل ۳ در زمان‌های مختلفی، بیشینه و کمینه‌ی شاخص سطح برگ گیاهان حاصل شد. در تحقیق مشابهی در گیاه خرفه تحت تیمارهای نیکل و کادمیوم نیز اثر نیکل و کادمیم روی صفت تعداد برگ معنی‌دار بود و با افزایش غلظت کادمیوم علائم سمیت در گیاه دیده شد (Yadegari et al., 2013).

سرعت رشد محصول: سرعت رشد محصول افزایش وزن یک پوشش گیاهی در واحد سطح در واحد زمان می‌باشد و منحنی آن از حاصلضرب مقادیر تجمع ماده خشک در مقادیر سرعت رشد نسبی براساس تعداد روز پس از کاشت بدست می‌آید. حداکثر مقدار سرعت رشد محصول (تندترین شیب منحنی) زمانی بدست می‌آید که گیاه به اندازه کافی بلند یا مترآم

آن بیشتر از سایر فلزات سنگین در گیاهان و به خصوص در برگ ها بیشتر از ریشه هاست (Lone et al., 2008). به دلیل مکانیسم های محافظتی گیاه که از انتقال سرب به بخش های بالایی جلوگیری می کند، میزان تجمع این فلز در بخش های گیاهی از الگوی زیر تبعیت می نماید: ریشه < ساقه < برگ < میوه < دانه (Sekara et al., 2005). در آزمایش تعیین اثرات کادمیوم بر گیاه دارویی خارمریم^۱ نتایج نشان داد که اثر بازدارندگی قابل توجهی در تمام سطوح کادمیوم نسبت به شاهد وجود دارد و افزایش غلظت کادمیوم تا ۶۰۰ میلی گرم در لیتر کاهش معنی داری در جوانه زنی، طول ساقه و ریشه نشان داد (Khatamipour et al., 2011).

میزان کادمیوم و سرب اندام هوایی: میزان انباشت سرب در گیاه، مانند کادمیوم متأثر از غلظت آن در خاک می باشد (Zhang et al., 2014)، اما غالباً میزان انباشت سرب در ریشه بالاتر از ساقه و برگ ها است. وجود بیشتر فلز سنگین در ریشه، تأثیر سمی بر ریشه و جلوگیری از رشد آن دارد که در اثر کاهش رشد ریشه، میزان جذب آب و یون های معدنی کاهش می یابد که نتیجه ی آن کاهش رشد عمومی گیاهان و به تبع آن کاهش وزن شاخساره گیاه می باشد (Zhao et al., 2012).

میزان کادمیوم و سرب خاک: افزایش غلظت فلزات سنگین در شاخساره ی گیاهان، ناشی از افزایش غلظت آن ها در خاک، در تحقیقات پیشین گزارش شده است و بین غلظت های اضافه شده ی فلزات سنگین به خاک و غلظت بافتی آن ها همبستگی مستقیم وجود دارد (Karimi et al., 2012). افزایش غلظت کادمیم در خاک باعث افزایش غلظت بافتی این عناصر در گیاهان می شود و در برخی از گونه های کلم^۲، کاهو^۱ و

فلزات سنگین در سایر گیاهان انطباق دارد (Karimi et al., 2012; Hajar et al., 2014).

میزان جذب خالص: عبارت است از مقدار ماده ساخته شده خالص در واحد سطح برگ در واحد زمان. مقدار آن از تقسیم سرعت رشد محصول بر شاخص سطح برگ بدست می آید. میزان جذب خالص، همچنین بیانگر میزان مواد معدنی است که گیاه در طول دوره رشد خود بدست می آورد. این شاخص همراه با افزایش سن گیاه کاهش می یابد، که علت آن مربوط به پیری برگ ها و سایه اندازی آن ها روی هم و کاهش سطح فتوسنتزی فعال است. هنگامی میزان جذب خالص به حداکثر می رسد که تمام برگ ها در معرض نور کامل خورشید قرار گیرند (Muriefah, 2008). باگذشت زمان و افزایش تعداد روز پس از کاشت، شاخص میزان جذب خالص تحت تیمارهای مختلف کاهش یافت (شکل ۶). بیشترین میزان جذب خالص در تیمار شاهد و غلظت ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک خشک سرب، در درجه روز رشد ۱۳۵/۱ به میزان تقریبی ۰/۰۷ گرم در مترمربع در روز، بدست آمد (شکل ۶). با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان فتوسنتز کمتر می شود، لذا قادر به استفاده کامل از انرژی خورشیدی نمی باشند. میزان جذب خالص در بعضی از گیاهان زراعی از ابتدا به صورت کاهشی است، ولی در برخی از گیاهان از جمله کاهو تا مدتی افزایشی و سپس کاهشی است (Moosavi and Seghatoleslami, 2013).

میزان کادمیوم و سرب ریشه: بیشترین میزان کادمیوم در ریشه مربوط به تیمارهای ترکیبی کادمیوم و سرب (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بود که نشان دهنده آن است که در سطوح پایین کادمیوم، سرب چون عنصر کم تحرکی است از حرکت کادمیوم به سمت بخش هوایی جلوگیری کرده و باعث تجمع بیشتر کادمیوم در ریشه می شود. بدلیل تحرک بیشتر کادمیوم، تجمع

1- *Silybum marianum* L.

2- *Brassica oleracea* L.

توتون^۱، تجمع سطوح کادمیم در برگ‌ها نسبت به ریشه‌ها بیشتر است (Lone et al., 2008). با افزایش غلظت کادمیم، میزان کادمیم در بخش هوایی افزایش یافت. علت تجمع بیشتر کادمیم در بخش هوایی بدلیل سهولت حرکت آن در گیاه است (Yadegari et al., 2011; Moustakas et al., 2013)، همچنین آن‌که انتقال عناصر غذایی به ساختارهای فوقانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Małkowski et al., 2005). زیادی فلزات سنگین به خصوص کادمیم در محیط رشد گیاهان منجر به کندی و کاهش رشد گیاه می‌شود. کادمیم باعث اثرات سمی مختلف در گیاهان از جمله کلروز برگ، تغییر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی، مانع از رشد ریشه و ساقه می‌شود (Sekara et al., 2005; Mauskar, 2008). افزایش غلظت فلزات سنگین در شاخساره‌ی گیاهان، ناشی از افزایش غلظت آن‌ها در خاک، بوده و بین غلظت‌های اضافه شده فلزات سنگین به خاک و غلظت آن‌ها در بافت‌های گیاهی همبستگی مستقیم وجود دارد (Houshmandfar et al., 2012; and Moraghebi, 2011).

همبستگی بین صفات: با افزایش مقدار فلزات سنگین در خاک، میزان آن‌ها در گیاه افزایش یافت. بین میزان فلزات سنگین در بخش هوایی و زمینی همبستگی منفی وجود داشت. با افزایش میزان فلزات سنگین در بخش هوایی مقدار آن‌ها در ریشه کاهش یافت. بین میزان کادمیم خاک با وزن خشک بخش هوایی و شاخص‌های فیزیولوژیکی از جمله شاخص سطح برگ، نسبت به وزن خشک ریشه همبستگی بیشتری وجود داشت، ولی سرب خاک همبستگی بیشتری با وزن خشک ریشه داشت، که نشان دهنده انتقال بیشتر کادمیم به بخش هوایی و تأثیر بیشتر بر کاهش وزن بخش هوایی است (جدول ۳). در مطالعات متعددی همبستگی منفی بین وزن خشک بخش هوایی و ریشه با میزان تجمع فلزات سنگین اشاره شده است. کاهش رشد در گیاهان به علت آلودگی ناشی از کادمیم می‌تواند به سبب افت هدایت هیدرولیکی ریشه‌ی این گیاهان، کم شدن انبساط سلولی و کاهش جذب آب در این گیاهان باشد. همچنین غلظت‌های سمی فلزات سنگین از طریق تغییر در ساختار غشای سلول‌های ریشه و کاهش سطوح جذب کننده‌ی آب، منجر به کاهش پتانسیل آب گیاه و تأثیر منفی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی نظیر تعرق، تنفس، فتوسنتز داشته و در نهایت منجر به کاهش رشد گیاه و نهایتاً بیوماس گیاه می‌شوند (Borghei et al., 2011; Karimi et al., 2012; Dada et al., 2012; Diaconu et al., 2012).

فلزات سنگین موجود در خاک سبب کاهش رشد و عملکرد ماده خشک بخش هوایی و بازده گیاه‌پالایی می‌شوند. با افزایش غلظت نیکل، مقاومت روزنه‌ها، بصورت معنی‌داری افزایش می‌یابد و در نتیجه تولید زی‌توده ریشه و بخش هوایی کاهش می‌یابد (Houshmandfar and Moraghebi, 2011). تغییر تجمع سرب در خاک از ۱/۳۱ میلی‌گرم در کیلوگرم تا ۳/۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم متفاوت بود. میزان سرب باقیمانده در خاک در اکثر تیمارها بالاتر از کادمیم بود. از دلایل جذب کمتر سرب، عدم قابلیت دسترسی سرب در خاک‌های قلیائی توسط گیاهان مختلف می‌باشد (Pulford and Watson, 2011).

۱- *Latuca sativa* L.
۲- *Nicotiana tabacum* L.

نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج این تحقیق مشخص گردید که گیاه همیشه بهار، گیاه پالایی کادمیم را به صورت گیاه جذبی و گیاه پالایی سرب را به صورت گیاه تثبیتی انجام می دهد. نتایج این آزمایش نشان داد که سطوح مختلف فلزات سنگین سرب و کادمیم تأثیر معنی داری بر صفات مورد برآورد از جمله صفات فیزیولوژیکی شامل: شاخص سطح برگ، وزن خشک کل، سرعت رشد، سرعت رشد نسبی و میزان جذب خالص داشت، به طوری که با افزایش غلظت این فلزات مقدار صفات مورد برآورد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. با افزایش غلظت کادمیم، میزان انباشت کادمیم در گیاه و میزان کادمیم قابل جذب خاک افزایش یافت و کادمیم ضمن حرکت به بخش های هوایی همراه با سرب بیشتری به بخش های هوایی منتقل شد، ولی سرب بیشتر در ریشه انباشته شد که به دلیل تحرک کمتر سرب و تا حدی مقدار اندک قلیایی بودن خاک بود. با افزایش غلظت این فلزات، در اغلب صفات نسبت به شاهد کاهش میانگین مشاهده شد. با توجه به آستانه تحمل گیاه همیشه بهار، پیشنهاد می شود در مناطق با آلودگی کادمیوم حداکثر تا ۵ میلی گرم در کیلوگرم در خاک و سرب تا ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک؛ جهت پالایش خاک، استفاده بشود.

References

- Anderson, V.M. (2013).** *Calendula officinalis* growth and production of secondary compounds in greenhouse and soil-based herbal organic production systems. Theses and Dissertations. Plant and Soil Sciences. University of Kentucky UK Publishing, p. 145-176.
- Borghei, M., Arjmandi, R. and Moogouei, R. (2011).** Potential of *Calendula alata* for phytoremediation of stable cesium and lead from solutions. Environmental Monitoring Assessment. 181:63-68.
- Bunghez, I.R and Mariana Ion, R. (2011).** Complex spectral characterization of active principles from marigold (*Calendula officinalis*). Journal of Science Art. 1(14):59-64.
- Chhotu, D., Jadia, D. and Fulekar, M.H. (2009).** Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. African Journal of Biotechnology. 8(6): 921-928.
- Dada, O.A., Fayinminnu, O.O. and Taiwo, T.O. (2012).** Phytoremediation of Pb, Cd and as from urban solid waste compost using *Tithonia diversifolia* hemns l and *Ageratum conyzoides* L. Annals West University Timisoara Biology. (2): 149-158.
- Davari, M., Homae, M. and Khodaverdiloo, H. (2010).** Modeling phytoremediation of Ni and Cd and from contaminated soils using macroscopic transpiration reduction functions. Water Soil Science. 14: 75-8. (In Persian with English abstract).
- Diaconu, D., Diaconu, R. and Navrotescu, T. (2012).** Estimation of heavy metals in medicinal plants and their infusions. Analele Universitatii" Ovidius" Constanta-Seria Chimie. 23(1):115-120.
- Garbisu, C., and Alkorta, I. (2001).** Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. Bioresources Technology. 77(3): 229-236.
- Garcia-Risco, M.R., Mouhid, L., Perez, L.S. and Padilla, A.L. (2017).** Biological Activities of Asteraceae (*Achillea millefolium* and *Calendula officinalis*) and Lamiaceae (*Melissa officinalis* and *Origanum majorana*) Plant Extracts. Plant Foods for Human Nutrition. 72(1): 96-102.
- Abdel-Salam, A.A., Salem, H.M. and Seleiman, M. F. (2015).** Phytochemical Removal of Heavy Metal-Contaminated Soils. Heavy Metal Contamination of Soils. Springer International Publishing. p. 299-309.
- Agrawal, V. and Sharma, K. (2006).** Phytotoxic effects of Cu, Zn, Cd and Pb on in vitro regeneration and concomitant protein changes in *Holarrhena antidysentrica*. Plant Biology. 50: 307-310.

- Hajar, E.W.I., Sulaiman, A.Z.B. and Sakinah, A.M. (2014).** Assessment of Heavy Metals Tolerance in Leaves, Stems and Flowers of *Stevia rebaudiana* Plant. *Procedia Environmental Science*. 20:386-393.
- Houshmandfar, A. and Moraghebi, F. (2011).** Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower. *African Journal of Agricultural Research*. 6(5): 1182-1187.
- Jabeen, R., Ahmad, A. and Iqbal, M. (2009).** Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms. *Botanical Review*. 75(4): 339-364.
- John, R., Ahmad, P., Gadgi, 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 (3): 65- 76.
- Karimi, R., Chorom, M. and Safe, A. (2012).** Potential of *Vicia faba* and *Brassica arvensis* for phytoextraction of soil contaminated with cadmium, lead and nickel. *African Journal of Agricultural Research*. 7(22): 3293-3301.
- Khalid, A., and Teixeira da Silva, J.A. (2012).** Biology of *Calendula officinalis*: focus on pharmacology, biological activities and agronomic practices. *Medicinal Aromatic Plant Science Biotechnology*. 6(11): 12-27.
- Khatamipour, M., Piri, E., Esmaeilian, Y. and Tavassoli, A. (2011).** Toxic effect of cadmium on germination, seedling growth and proline content of Milk thistle (*Silybum marianum*). *Scholars Research Library Annals Biology Research*. 2(5): 527-532.
- Lone, M.I., Li, H., Zhen, P.J., Stoffella, E. and Yang, X. (2008).** Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. *Journal of Zhejiang University Science Bulletin*. 9: 210-220.
- Malkowski, E., Kurtykal, R., Kita, A. and Karcz, W. (2005).** Accumulation of Pb and Cd and its effect on Ca distribution in maize seedlings (*Zea Mays* L.). *Polish Journal of Environmental Studies*. 14(2): 203-207.
- Manio, T., Stentiford, E.I. and Millner, P.A. (2003).** The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferous water. *Ecology Engineering*. 20: 65-74.
- Mauskar, J.M. (2008).** Cadmium, an environment toxicant, central pollution control board, ministry of environment and forests, Govt of India, Parivesh Bhawan, East Arjun Nagar, Delhi-110032.
- Mok, M.C. (1994).** Cytokinins and plant development. *Chemistry Actions and Functions*.p. 155-166.
- Moosavi, S.G. and Seghatoleslami, M.J. (2013).** Phytoremediation: a review. *Advance Agrculture Biology*. 1: 5-11.
- Moustakas, N.K., Akoumianaki-Ioannidou, A. and Barouchas, P.E. (2011).** The effects of cadmium and zinc interactions on the concentration of cadmium and zinc in pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Australian Journal of Crop Science*. 5(3): 277-282.
- Muriefah, S.S. (2008).** Growth parameters and elemental status of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings in response to cadmium accumulation. *International Journal of Agriculture and Biology*. 10(3): 261-266.
- Pirzad, A. and Shokrani, F. (2012).** Effect of biological nitrogen (added to irrigation system) and end season water deficit on growth of leaf and flower yield in *Calendula officinalis* L. *International Journal of Agriculture*. 2(3): 183-190.
- Pulford, I.D. and Watson, C. (2003).** Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees-a review. *Environmental International*. 29(4):529-540.
- Rodriguez, J.A., Nanos, N., Grav, J.M. and Gil, L. (2008).** Multiscale analysis of heavy metal contents in Spanish agriculture topsoils. *Chemosphere*. 70:1085-1096.
- Sahmurova, A., Celik, M. and Allahverdiyev, S. (2010).** Determination

- of the accumulator plants in Kucukcekmece Lake (Istanbul). African Journal of Biotechnology. 6545-6551.
- Safari Sinegani, A.A. and Khalilikhah, F. (2011).** The effect of application time of mobilising agents on growth and phytoextraction of lead by *Brassica napus* from a calcareous mine soil. Environmental Chemistry Letter. 9(2): 259-265.
- Sekara, A., Poniedzialek, M., Ciura, J. and Jedrszczyk, E. (2005).** Cadmium and lead accumulation and distribution in the organs of nine crops: implications for phytoremediation. Polish Journal of Environmental Studies. 14(4): 509-516.
- Shi, G.R., Cai, Q.S., Liu, Q.Q. and Wu, L. (2009).** Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. Acta Physiologiae Plantarum. 31(5): 969-977.
- Vassilev, A., Berova, M., Stoeva, N. and Zlatev, Z. (2005).** Chronic Cd toxicity of bean plants can be partially reduced by supply of ammonia sulphate. Journal of Crop European Agriculture. 6: 389-396.
- Vodyanitskii, Y.N. (2016).** Standards for the contents of heavy metals in soils of some states. Annals of Agrarian Science. 14: 257-263.
- Wang, H., Zhao, S.C., Liu, R.L., Zhou, W. and Jin, J.Y. (2009).** Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. Photosynthetica. 47 (2): 277- 283.
- Yadegari, M., Karimi, S. and Irani Pour, R. (2013).** The effect of heavy metals (Cd and Ni) on growth, yield and other characters of *Portulaca oleracea* L. Journal of Applied Science and Agriculture. 8(7): 1438-1445.
- Yadegari, M. (2015).** Foliar application of micronutrients on essential oils of borago, thyme and marigold. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 15 (4). 946-964.
- Yang, Z.H.A.O., Yuan-Zhi, P.A.N., Biying, L.I.U. and Lei, C.A.I. (2012).** *Pilea cadierei* Gagnep. Guill's Growth and Accumulation under Single and Combined Pollution of Cd and Pb. Journal of Agro-Environment Science. 1: 10-11.
- Zhao, Y.D., Pan, Y.Z., Liu, B.Y. and Cai, L. (2012).** *Pilea cadierei* Gagnep. et Guill's growth and accumulation under single and combined pollution of Cd and Pb. Journal of Agro-Environment Science. 31(1): 48-53.
- Zhang, H., Guo, Q., Yang, J. and Ma, J. (2014).** Cadmium accumulation and tolerance of two castor cultivars in relation to antioxidant systems. Journal of Environmental Sciences. 26(10): 2048-2055.