تحقیقات آب و خاک ایران | دوره ۵۲ | شماره ۱۱ | بهمن ۱۴۰۰ (ص ۲۷۶۲-۲۷۵۱)

https://dx.doi.org/10.22059/ijswr.2021.329843.669063

(مقاله علمی - پژوهشی)

Effect of Lead Stress on Growth and Mineral Elements of *Silybum marianum* (L.) Gaertn and *Artemisia absinthium* L.

NATEQ LASHKARI SANAMI[1], JAMSHID GHORBANI[1*], SEYED MOHAMMAD HODJATI[2], GHORBAN VAHABZADEH[3], BABAK MOTESHAREZADEH[4]

1. Department of Range Management, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

2 Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

4. Department of Watershed Management, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

5. Department of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

(Received: Sep. 4, 2021- Revised: Oct. 31, 2021- Accepted: Dec. 6, 2021)

ABSTRACT

Identifying morphoanatomica, physiological and biochemical responses of plants exposed to heavy metals is important for the vegetation restoration on coal mine sites. In this study, the effects of lead (Pb) were assessed on the growth and mineral nutrient content of *Artemisia absinthium* and *Silybum marianum*. A factorial experiment based on a completely randomized design was conducted with three replicates in a glasshouse using $Pb(NO_3)_2$ at 0 (control), 300 and 600 mg/L as treatment. After two months of the growth period, plants were harvested and their growth characteristics and mineral elements were measured for roots and shoots. The results showed that there was no effect of Pb stress on roots and shoots of *A. absinthium* while root biomass and volume of *S. marianum* significantly reduced under Pb treatments. The Pb content in roots of both plant species and in shoots of *S. marianum* increased. The maximum level of Pb accumulation was found in shoots and roots of *S. marianum* with 14.73 and 57.16 mg/kg dry matter, respectively. The Pb translocation factor was less than one for both plant species. Fe content in the shoot of *S. marianum* significantly increased under Pb stress. Mn concentration in the shoot of *S. marianum* was significantly greater than that in *A. absinthium*. According to the presence of these plants on coal mine waste and their abilities to grow and accumulate Pb in high concentrations, they can be used for soil remediation in a similar situations or in Pb-contaminated soils.

Keywords: Coal Waste, Heavy Metals, Phytoremediation, Reclamation.

تأثیر تنش سرب بر رشد و محتوای عناصر معدنی گیاه خارمریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) و افسنطین (*Artemisia absinthium* L.)

ناطق لشکری صنمی[۱]، جمشید قربانی[*۱]، سید محمد حجتی[۲]، قربان وهاب‌زاده[۳]، بابک متشرع‌زاده[۴]

۱. گروه مرتع‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲. گروه جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳. گروه آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۴. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۱۳- تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۸/۹- تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۹/۱۵)

چکیده

شناخت پاسخ‌های مورفوآناتومیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان در معرض فلزهای سنگین، از اهمیت بالایی برای احیای پوشش گیاهی مناطق معدنی برخوردار است. در این پژوهش اثر سرب بر رشد و مقادیر عناصر غذایی در گیاه خارمریم و افسنطین بررسی شد. آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای و با اعمال محلول نیترات سرب در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. پس از رسیدن به رشد مطلوب، گیاهان برداشت شده و ویژگی‌های رویشی و مقدار کلسیم، منیزیم، پتاسیم، فسفر، آهن، روی، منگنز، سرب و مس در اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب، رشد اندام هوایی و زیرزمینی افسنطین تحت تاثیر قرار نگرفت اما زیتوده ریشه و حجم ریشه خارمریم به طور معنی‌داری در غلظت بالای سرب کاهش یافت. با افزایش غلظت سرب، انباشت سرب در ریشه هر دو گیاه و در اندام هوایی خارمریم افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین سرب جذب شده در اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب با ۱۴/۷۳ و ۵۷/۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم برای خارمریم بود. فاکتور انتقال سرب در هر دو گیاه کمتر از یک به‌دست آمد. غلظت آهن در اندام هوایی خارمریم به طور معنی‌داری در تیمار سرب افزایش یافت. غلظت منگنز در اندام هوایی خارمریم در تنش سرب بیشتر از افسنطین بود. با توجه به حضور طبیعی این گیاهان در باطله‌های زغال سنگ و توانایی رشد و انباشت سرب در غلظت‌های سمی این فلز، می‌توان از آنها برای اصلاح مناطق مشابه یا با آلودگی سرب استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: احیاء معادن، باطله زغال‌سنگ، فلزهای سنگین، گیاه پالایی.

مقدمه

اختلالات ناشی از فعالیت‌های انسانی شامل صنعتی شدن، توسعه کشاورزی و فعالیت‌های معدنکاری به همراه جمعیت رو به رشد و توسعه شهرنشینی نه‌تنها آثار زیان‌باری بر میزان دسترسی به منابع طبیعی ایجاد کرده، بلکه باعث گسترش آلودگی‌های شدیدی نیز شده است. برخی آشفتگی‌ها در چرخه‌های بیوژئوشیمیایی طبیعی موجب انباشت فلزهای سنگین شده که به دلیل بوم‌شناختی، تغذیه‌ای و محیط زیستی دارای اهمیت قابل-توجهی است (Ali *et al*., 2013). انباشت فلزها در خاک برای همه جانداران از جمله گیاهان خطرناک است. به‌طور کلی، دو نوع فلز در خاک یافت می‌شود که به‌عنوان ریزمغذی‌های ضروری برای رشد طبیعی گیاه (آهن، منگنز، روی، مس، کبالت، مولیبدن و نیکل) و عناصر غیرضروری با عملکرد بیولوژیکی و فیزیولوژیکی نامشخص (کادمیوم، کروم، سرب) شناخته می‌شوند (Peng *et al*., 2021; Barker & Pilbeam, 2015). گیاهان در هر دو سطح روی‌زمینی و زیرزمینی می‌توانند فلزهای سنگین را جذب کنند. عناصر ضروری نقش اساسی در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها دارند و گیاهان برای رشد، متابولیسم و توسعه به مقدار کمی از آنها نیاز دارند. با این حال، غلظت فلزهای ضروری و غیرضروری عاملی مهم در روند رشد گیاهان بوده، به‌گونه‌ای که حضور بیش از اندازه-ی آنها می‌تواند منجر به کاهش و مهار رشد گیاهان شود (Zengin & Munzuroglu, 2005). در این بین، سرب از فلزهای ذاتا سمی بوده و از برخی فعالیت‌های متابولیکی در گیاهان مانند بیوسنتز ترکیبات نیتروژنی، متابولیسم کربوهیدرات و جذب آب جلوگیری

* نویسنده مسئول: j.ghorbani@sanru.ac.ir

می‌کند (Sharma & Dubey, 2005). آلودگی سرب در خاک نه تنها باعث تغییر در جمعیت ریزجانداران خاک و در نتیجه کاهش باروری خاک شده بلکه مستقیما بر تغییر شاخص‌های فیزیولوژیک تأثیر گذاشته و منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Sharma and Dubey, 2005).

معدنکاری زغال‌سنگ به میزان قابل توجهی فلزهای سنگین را در محل‌های انباشت باطله و مناطق مجاور افزایش می‌دهد (Aguilar *et al*., 2004). همچنین باطله‌های معدنی ناشی از استخراج زغال‌سنگ دارای مقادیر بالایی از سولفیدها مثل پیریت[1]، گالن[2] و اسفالریت و ورتزیت[3] هستند. از این رو، باطله‌های معدنی ناشی از فعالیت‌های معدنکاری بیشتر متشکل از غلظت‌های زیاد سرب، روی، مس و کادمیوم هستند (Masto *et al*., 2017). در چنین خاک‌هایی با مقادیر متنوع فلزها، برخی از گونه‌های گیاهی خاص با سازگاری بالا مستقر می‌شوند (Baker, 1981). بررسی‌های گوناگونی در سراسر دنیا، پاسخ گیاهان به فلز سرب را در مناطق معدنی مورد ارزیابی قرار داده‌اند (Alvarenga *et al*. 2004; Mahdavian *et al*. 2016). بر اساس نتایج آنها، شاخص‌های رشدی گیاهان در حضور سرب کاهش یافته و گیاهان توانایی‌های متفاوتی در انباشت سرب داشتند. همچنین، برخی پژوهش‌ها به دگرگونی‌های مقادیر یون‌های معدنی و ویژگی‌های رویشی گیاه در تنش سرب پرداخته‌اند (Yilmaz *et al*., 2009; Lamhamdi *et al*., 2013). نتایج Yilmaz *et al*. (2009) نشان داد که انباشت کلسیم و پتاسیم تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب و منیزیم و روی تا سطح ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب در گیاه *Solarium melongena* افزایش یافت و در بالاترین غلظت (۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) کاهش یافت. اما در پژوهش Lamhamdi *et al*. (2013) با افزایش غلظت سرب انباشت کلسیم، پتاسیم، منیزیم، آهن، مس و روی در گیاهان *Triticum aestivum* و *Spinacia oleracea* کاهش قابل توجهی یافت.

گیاهانی که خودبخود در محیط‌های معدنی رشد می‌کنند باید برای اقدامات احیایی آن منطقه در اولویت قرار گیرند. بنابراین ضرورت دارد تا ویژگی‌های این گیاهان پیشگام در مرحله جوانه‌زنی و رشد و استقرار تحت تأثیر سطوح مختلف فلزهای مورد بررسی قرار گیرد. گونه‌های خارمریم (*Silybum marianum*) و افسنطین (*Artemisia absinthium*) گیاهانی هستند که در باطله‌های زغال‌سنگ در معادن کارمزد سوادکوه در مازندران حضور داشته و به‌طور طبیعی مستقر شده‌اند. خارمریم گیاهی یک یا دوساله و افسنطین گیاهی چندساله و بوته‌ای و هر دو از گیاهان دارویی مهم محسوب می‌شوند. در بیشتر پژوهش‌های انجام شده روی این دو گیاه به اهمیت دارویی و بررسی ترکیبات شیمیایی و اسانس آنها پرداخته شده که سابینن، آلفا توجون و بتا توجون از مهمترین ترکیبات افسنطین (Gandomi Nasrabadi et al., 2012) و سیلی‌بین و سیلی‌مارین (Fallah Huseini *et al*., 2004) ترکیبات اصلی خارمریم بودند. Lashkari Sanami *et al*. (2021) ویژگی‌های جوانه‌زنی این گیاهان را در تنش فلزهای سنگین مورد بررسی قرار داده و قابلیت تحمل آنها را در غلظت‌های بالای آلودگی گزارش دادند، اما در مورد رشد و استقرار این گیاهان تحت تنش اطلاعات چندانی وجود ندارد. با شناخت این گیاهان و پاسخ آنها به غلظت‌های بالاتر آلاینده‌ها، می‌توان از ظرفیت باارزش آنها در پروژه‌های احیاء زیستی مناطق آلوده استفاده کرد. در این پژوهش توانایی جذب و انباشت سرب و ویژگی‌های رویشی دو گیاه و همچنین پاسخ‌های تغذیه ای گیاهان به آلودگی سرب مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

طراحی و اجرای آزمایش

پس از بازدیدهای مکرر میدانی از باطله‌های معدنی زغال‌سنگ منطقه کارمزد سوادکوه در استان مازندران (طول‌های جغرافیایی ″۳۸ ′۵۷ °۵۲ تا ″۱۲ ′۵۸ °۵۲ شرقی و عرض‌های جغرافیایی ″۵۷ ′۰۵ °۳۶ تا ″۵۳ ′۰۶ °۳۶ شمالی) اقدام به جمع‌آوری بذر خارمریم و افسنطین شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. از محلول نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) در غلظت‌های ۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر به عنوان تیمار استفاده شد. تعیین سطح فلز بر مبنای غلظت آن در باطله (۳۴ میلی‌گرم در کیلوگرم) و اعمال چند برابری آنها برای بررسی پاسخ با توجه به مقادیر معمول فلز سرب (۵-۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) در گیاهان بود (Chaney, 1989). خاک مورد نیاز از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک غیرآلوده تهیه شد. سپس نمونه‌های خاک در هوای آزاد خشک و بخشی از آنها به منظور تعیین مهمترین ویژگی‌های مهم فیزیکی و شیمیایی از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند (جدول ۱). به میزان مورد نیاز باطله زغال‌سنگ نیز از منطقه تهیه و برخی ویژگی‌های آنها از جمله بافت خاک (Bouyoucos, 1962)، نیتروژن کل (Bremner, 1996)،

[1]-FeS_2
[2]-PbS
[3]-{(Zn,Fe)S}

کربن آلی (Walkley and Black, 1934)، واکنش خاک (Thomas, 1996)، قابلیت هدایت الکتریکی (Rhoades, 1996)، کربنات کلسیم معادل (Loeppert and Suarez, 1996)، پتاسیم قابل جذب (Helmke and Spark, 1996)، فسفر قابل جذب (Olsen et al., 1954)، آهن، روی، مس و منگنز به روش استخراج با DTPA (Page, 1982) تعیین شدند (جدول ۱).

یک کیلوگرم بستر کشت دارای ترکیب خاک و باطله با نسبت ۱:۴ به گلدان‌ها اضافه شد. برای ایجاد آلودگی، فلز سرب به شکل نمک نیترات سرب در مقدار مشخصی از آب مقطر با توجه به ظرفیت زراعی خاک حل و در فاصله زمانی هر دو هفته به همراه آبیاری در همه گلدان‌های تحت تنش اعمال شد (Motesharezadeh *et al.*, 2015). علت این امر ایجاد سازگاری بهتر گیاه با تنش فلز سنگین و جلوگیری از بروز تنش ناگهانی ناشی از افزودن فلز سنگین بود. در طبیعت نیز تنش‌های غیر زنده از جمله آلودگی فلزات معمولا به مرور و در طول سالیان متمادی در اثر آزادسازی از مواد مادری، آبیاری با آب‌های آلوده و نیز تجمع فلز ناشی از مصرف کودهای شیمیایی و آلی اتفاق می‌افتد (Najafi and Sarhangzadeh, 2014; Motesharezadeh and Savaghebi, 2014). علاوه بر این، ایجاد آلودگی با مصرف نمک حاوی فلز در آب آبیاری با توجه به انحلال قابل قبول برخی نمک‌ها از جمله نیترات سرب به توزیع یکنواخت فلز در کل توده خاک گلدان کمک می‌کند و روش دقیقی به حساب می‌آید (Chaoua *et al.*, 2019). سپس در هر گلدان تعدادی بذر از گیاهان خارمریم و افسنطین به صورت جداگانه در عمق دو سانتی‌متری و با فواصل منظم در خاک کشت شدند. پس از سبز شدن، تعداد گیاهچه‌های موجود در هر گلدان تنک و در نهایت دو گیاهچه قوی و سالم نگه داشته شدند. در دوره رشد، میانگین دمای گلخانه ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۶۵ درصد و طول دوره روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت بود. آزمایش به مدت دو ماه و تا دیدن نشانه‌های سمی بودن که شامل جلوگیری از رشد و کلروز شدن بوده (Mahdavian *et al.* 2016)، در گیاهان ادامه یافت.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های مهم فیزیکی و شیمیایی خاک و باطله زغال‌سنگ مورد استفاده برای کشت گلدانی

ویژگی‌های خاک	خاک	باطله زغال‌سنگ
شن (درصد)	۳۰	۷۶/۸۶
سیلت (درصد)	۵۰	۱۲/۱۰
رس (درصد)	۲۰	۱۱/۰۴
نیتروژن کل (درصد)	۰/۰۷	۰/۱۱
کربن آلی (درصد)	۱/۶۷	۶/۱۲
واکنش خاک	۸/۱۸	۴/۷۵
قابلیت هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	۲/۷۳	۰/۵۶
کربنات کلسیم معادل (درصد)	۹/۳۱	۳/۲۶
پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۱۶/۴۶	۲۲۲/۱۷
فسفر قابل جذب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲/۸۹	۶/۷۲
کلسیم (میلی‌اکی والان بر لیتر در خاک و میلی‌گرم بر کیلوگرم در باطله)	۱۲/۵	۳۳۰۰
منیزیم (میلی‌اکی والان بر لیتر در خاک و میلی‌گرم بر کیلوگرم در باطله)	۱۱	۸۳۰۰
آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۹/۵۱	۲۰۹۰۰
روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۳/۰۹	۶۰
منگنز (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۸/۳۱	۱۹۳
سرب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۵۳	۲۱
مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱/۶۳	۳۳

(برای آهن، روی، منگنز، سرب و مس، مقادیر قابل جذب در خاک و مقادیر کل در باطله اندازه‌گیری شدند)

اندازه‌گیری‌ها در گیاهان

در پایان آزمایش، ارتفاع گیاهان با خط‌کش اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان، نخست پایه‌های گیاهی مربوط به هر نمونه از خاک بیرون آورده شد. سپس ریشه‌ها از طوقه بریده شد و پس از شستشو و زدودن خاک از آن، توسط کاغذ صافی خشک شدند تا رطوبت سطحی آنها برطرف شود. سپس بلافاصله اندازه‌گیری وزن تر اندام‌های گیاهی با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ انجام شد. طول ریشه با خط‌کش تعیین شد. برای اندازه‌گیری حجم ریشه از یک استوانه مدرج استفاده شد. برای تعیین وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نمونه‌ها در پاکت‌های کاغذی جداگانه قرار داده شد و به آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند. پس از توزین

وزن خشک، نمونه‌های گیاهی با استفاده از آسیاب برقی با محفظه استیل، به خوبی پودر شدند. یک گرم از نمونه آسیاب شده در بوته چینی ریخته و به کوره با دمای ۵۰۰ درجه سلسیوس انتقال داده شد. برای عصاره‌گیری گیاهی از روش هضم خشک و ترکیب با HCl استفاده شد (Emami, 1996). اندازه‌گیری پتاسیم اندام هوایی و ریشه با استفاده از عصاره تهیه شده به روش هضم خشک، توسط دستگاه فلیم فتومتر مدل JENWAY-PFP7 تعیین شد (Ryan *et al*., 2007). از روش زرد مولیبدو وانادات و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر، فسفر اندام هوایی و ریشه نمونه‌ها اندازه-گیری شد (Ryan *et al*., 2007). کلسیم و منیزیم به روش کلسیمتری و غلظت عناصر منگنز، آهن، روی، مس و سرب در دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu-AA 6400 اندازه‌گیری شد. محاسبه فاکتور انتقال[1] از تقسیم میزان انباشت فلز در اندام هوایی به انباشت فلز در ریشه به دست آمد (Alaboudi *et al*., 2018).

آنالیز داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد که گونه گیاهی و سطوح سرب اثرات اصلی بودند. داده‌های به صورت درصد به علت پیروی نکردن از پراکنش نرمال، قبل از تجزیه واریانس تبدیل لگاریتمی شدند. برای اثرات معنی‌دار، میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. آنالیز با کمک بسته Agricolea در نرم افزار R صورت پذیرفت (R Core Team 2019).

نتایج و بحث

ویژگی‌های رشد گیاهان

نتایج نشان داد که تنها ویژگی‌های ریشه تحت تنش سرب قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش غلظت نیترات سرب، وزن تر ریشه خارمریم کاهش معنی‌داری را نشان داد اما کاهش وزن تر ریشه افسنطین معنی‌دار نبود (شکل ۱). در تیمار شاهد خارمریم به طور معنی‌داری وزن تر ریشه بیشتری نسبت به افسنطین داشت. وزن خشک ریشه با افزایش آلودگی سرب دارای نتایج مشابه بوده و در بیشترین غلظت سرب زیتوده ریشه هر دو گیاه با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۱). حجم ریشه خارمریم با افزایش غلظت سرب کاهش معنی‌دار نشان داد اما حجم ریشه افسنطین تحت تاثیر تنش سرب قرار نگرفت (شکل ۱). بیشترین حجم ریشه با ۱۳/۶۶ و ۸ سانتی‌متر مکعب به‌ترتیب در تیمار شاهد و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم برای خارمریم بوده است (شکل ۱).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش سرب، نوع گیاه و برهمکنش آنها بر ویژگی‌های رویشی

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	سطح ریشه (سانتی‌متر مربع)	حجم ریشه (سانتی-متر مکعب)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی‌متر)
گیاه	۱	۲۴۷۳/۱۵***	۴/۱۷**	۶۴/۶۴**	۰/۰۰۰۹^{ns}	۲۹۷/۱۱**	۷۸/۱۲**	۱۴۸۷/۴۹***	۷۷/۹۲**
سطوح سرب	۲	۳۷/۴۸*	۱/۲۲*	۴۴/۵۹**	۱/۰۵**	۲۱۲/۶۴**	۳۹/۱۸**	۸۳/۸۵*	۱۳۶/۱۲***
گیاه × سطوح سرب	۲	۶/۵۲^{ns}	۰/۳۱^{ns}	۲۸/۶۸*	۰/۷۹**	۶۶/۵۵^{ns}	۲۵/۷۹*	۲۲/۹۸^{ns}	۶/۵۱^{ns}
خطا	۱۲	۸/۰۶	۰/۲۶	۶/۲۵	۰/۰۹	۲۰/۷۸	۵/۶۵	۱۹/۹۴	۷/۸۷
ضریب تغییرات	-	۱۱/۰۹	۱۲/۹۵	۱۷/۰۴	۲۱/۴۰	۱۹/۹۲	۱۵/۸۱	۲۰/۲۶	۱۷/۰۶

اعداد میانگین مربعات به همراه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ (*)، ۰/۰۱ (**)، ۰/۰۰۱ (***) و عدم معنی‌داری (ns) هستند.

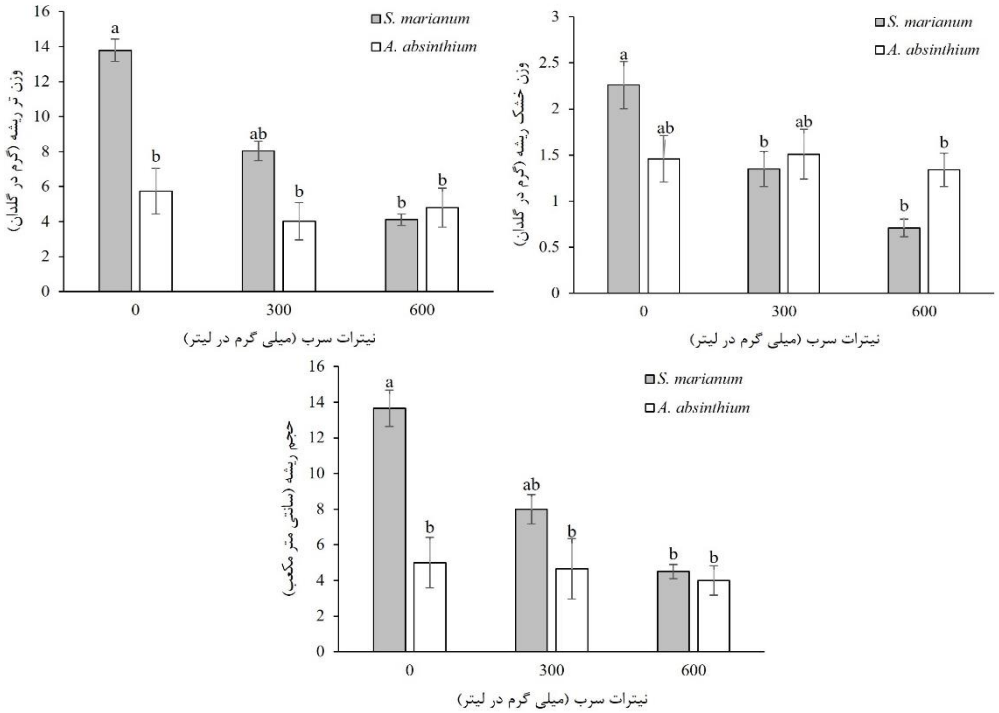
مقادیر عناصر کم‌مصرف و پرمصرف

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل گیاه در سطح سرب برای منیزیم ریشه (جدول ۳) و آهن و منگنز اندام هوایی و مس اندام هوایی و ریشه (جدول ۴) معنی‌دار شد. مقدار منیزیم در ریشه گیاه خارمریم در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور معنی‌دار بیشترین مقدار بود که در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۲). منیزیم ریشه در گیاه افسنطین تحت تأثیر اقزایش غلظت نیترات سرب قرار نگرفت (شکل ۲). در بالاترین سطح آلودگی مقدار منیزیم ریشه دو گیاه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

با افزایش غلظت سرب در خاک، غلظت آهن در اندام هوایی گیاه خارمریم به ترتیب به ۱۴۱۳/۳۱ و ۱۲۹۰/۲۹ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک در تیمار ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید (شکل ۲). در حالی که مقدار آهن در اندام هوایی گیاه افسنطین با افزایش غلظت سرب تغییر معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۲). با افزایش غلظت سرب تا سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در

1-Transfer factor

کیلوگرم، میزان مس در اندام هوایی و ریشه گونه خارمریم به طور معنی‌داری افزایش یافت اما در غلظت بالاتر انباشت مس کم شد (شکل ۲). در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب، میزان مس در ریشه و اندام هوایی هر دو گیاه اختلاف معنی‌داری نداشتند. با توجه به نتایج، با وجود کاهش میزان منگنز اندام هوایی با افزایش سرب خاک، بین تیمار شاهد و تیمارهای سرب برای گیاه خارمریم اختلاف معنی‌داری دیده نشد (شکل ۲). انباشت منگنز در اندام هوایی خارمریم در تیمارهای شاهد و دو سطح نیترات سرب به طور معنی‌داری بیشتر از افسنطین بوده است (شکل ۲). با توجه به نتایج اثرات اصلی، مقادیر عناصر کم‌مصرف و پرمصرف در ریشه و اندام هوایی گیاه خارمریم بیشتر از گیاه افسنطین بود (جدول ۳ و ۴).



شکل ۱- مقایسه اثرات برهمکنش تیمار سرب و گونه‌های گیاهی خارمریم و افسنطین بر ویژگی‌های وزن تر و خشک ریشه (گرم در گلدان)، و حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب). (حروف مشترک روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است ($p<0.05$)).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش سرب، نوع گیاه و برهمکنش آنها بر مقادیر عناصر پرمصرف (واحدها به صورت درصد و اعداد تبدیل لگاریتم شدند)

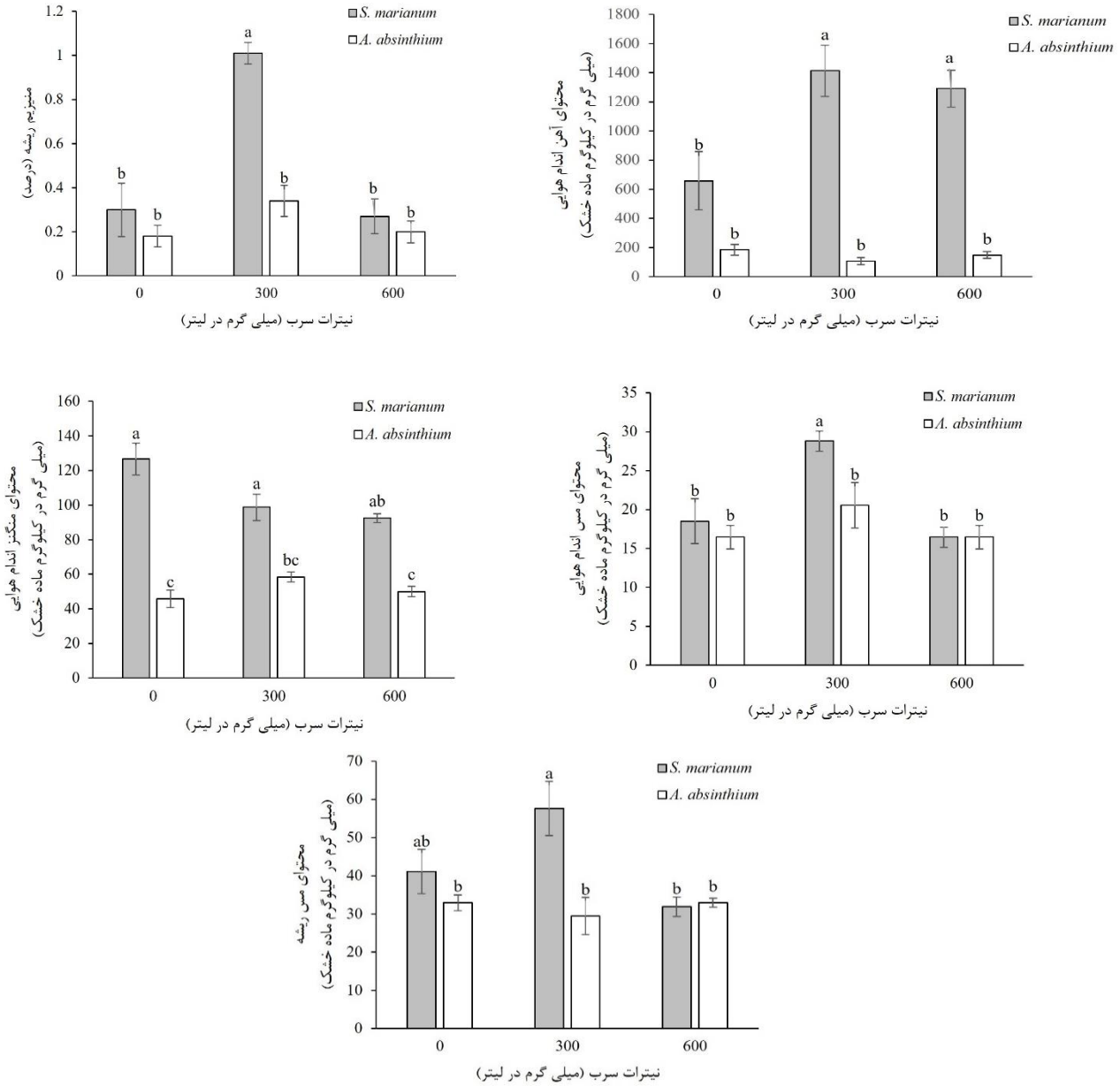
منبع تغییرات	درجه آزادی	کلسیم اندام هوایی	کلسیم ریشه	منیزیم اندام هوایی	منیزیم ریشه	پتاسیم اندام هوایی	پتاسیم ریشه	فسفر اندام هوایی	فسفر ریشه
گیاه	۱	۰/۷۸***	۰/۰۵**	۰/۰۹***	۰/۰۳**	۰/۰۱*	۰/۰۵**	۰/۰۰۱*	۰/۰۲***
سطوح سرب	۲	۰/۰۰۶ns	۰/۰۶**	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۳**	۰/۰۱*	۰/۰۲*	۰/۰۰۲***	۰/۰۰۳**
گیاه × سطوح سرب	۲	۰/۰۰۵ns	۰/۰۱ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۱*	۰/۰۰۴ns	۰/۰۰۵ns	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۰۰۰۴ns
خطا	۱۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات	-	۸/۸۵	۳۰/۳۲	۱۴/۰۸	۳۴/۱۳	۱۰/۹۱	۲۲/۴۷	۱۱/۱۴	۱۳/۰۲

اعداد میانگین مربعات به همراه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ (*)، ۰/۰۱ (**)، ۰/۰۰۱ (***) و عدم معنی‌داری (ns) هستند.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش سرب، نوع گیاه و برهمکنش آنها بر محتوای عناصر کم‌مصرف (واحدها میلی گرم بر کیلوگرم ماده خشک)

منبع تغییرات	درجه آزادی	آهن اندام هوایی	آهن ریشه	مس اندام هوایی	مس ریشه	منگنز اندام هوایی	منگنز ریشه	روی اندام هوایی	روی ریشه
گیاه	۱	۴۲۶۴۲۰/۹۹***	۳۸۲۳۲۸۹/۴۹***	۵۲/۹۷**	۶۲۴/۱۰**	۱۳۴۰۱/۰۳***	۳۹۴۸۷/۰۵***	۱۰۰۲/۷۷ns	۷۹۹۹/۸۶*
سطوح سرب	۲	۲۰۴۹۰۳/۰۵*	۱۱۱۷۰۷۶/۸۷ns	۱۲۰/۷***	۱۸۸/۰۹*	۳۳۸/۷۶ns	۵۵۶۷/۹۹*	۱۲۴۱/۹۲*	۵۸۶۳/۸۳*
گیاه × سطوح سرب	۲	۲۹۲۱۱۳/۱۵*	۱۷۶۵۵۱۶/۰۷ns	۲۷/۵۶*	۳۳۲/۷۷**	۷۷۶/۷۴*	۱۵۹۰/۹۸ns	۲۰۵/۲۳ns	۴۲۱۸/۳۵ns
خطا	۱۲	۴۴۸۱/۱۴	۱۲۳۵۴۸/۸	۴/۲۳	۴۱/۳۴	۱۶۶/۳۹	۱۱۰۰/۰۹	۲۲۰/۶۰	۱۴۰۸/۷۲
ضریب تغییرات	-	۱۹/۳۹	۱۷/۲۵	۱۰/۵۲	۱۷/۰۷	۱۶/۳۹	۱۸/۹۸	۱۳/۵	۱۶/۰۱

اعداد میانگین مربعات به همراه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ (*)، ۰/۰۱ (**)، ۰/۰۰۱ (***) و عدم معنی‌داری (ns) هستند.



شکل ۲- مقایسه اثرات برهمکنش تیمار سرب و گونه‌های گیاهی خارمریم و افسنطین بر منیزیم ریشه (درصد) و محتوای آهن اندام هوایی، منگنز اندام هوایی، مس ریشه و مس اندام هوایی (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک). (حروف مشترک روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است ($p<0.05$))

غلظت سرب در اندام گیاهی

نتایج نشان داد که اثر متقابل گونه و سطح سرب بر میزان انباشت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاهان معنی‌دار شد (جدول ۵). با افزایش غلظت سرب خاک، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه خارمریم افزایش معنی‌داری داشت اما برای افسنطین تنها غلظت سرب در ریشه دارای افزایش معنی‌دار بود (شکل ۳). بیشترین انباشت سرب در اندام هوایی و ریشه به ترتیب با ۱۴/۷۳ و ۵۷/۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک در گیاه خارمریم و مربوط به تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود (شکل ۳). در هر دو سطح تیمار نیترات سرب، خارمریم به طور معنی‌داری انباشت بیشتری از سرب را در اندام هوایی و ریشه داشت (شکل ۳).

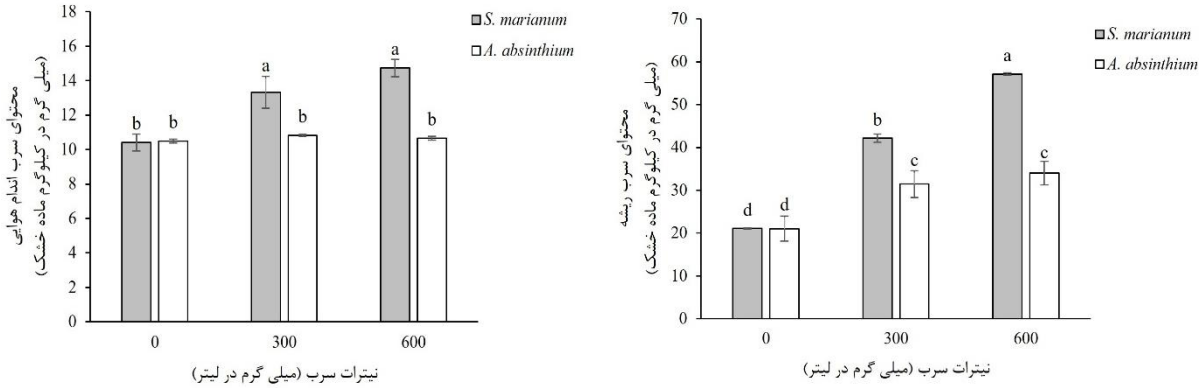
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سمیت سرب در خاک، فاکتور انتقال را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۵). خارمریم دارای فاکتور انتقال سرب بیشتری (۰/۳۹) نسبت به افسنطین (۰/۳۶) بود. فاکتور انتقال سرب با افزایش غلظت سرب به طور معنی‌داری کاهش یافت. به گونه‌ای که بیشترین و کمترین فاکتور انتقال

سرب به ترتیب با ۰/۵ و ۰/۲۹ در تیمار شاهد و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دیده شدند. گیاه افسنطین در انتقال سرب به اندام هوایی دارای توانایی بیشتری بود. اثر متقابل برای فاکتور انتقال سرب معنی‌دار نشد (جدول ۵).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش سرب، نوع گیاه و برهمکنش آنها بر انباشت سرب و فاکتور انتقال سرب در گیاهان

منبع تغییرات	درجه آزادی	سرب اندام هوایی	سرب ریشه	فاکتور انتقال سرب
گیاه	۱	۲۱/۱۲***	۵۷۳/۴۷***	۰/۰۰۴*
سطوح سرب	۲	۸/۰۷***	۹۲۹/۷۲***	۰/۰۷***
گیاه × سطوح سرب	۲	۶/۶۱****	۱۹۹/۵۲***	۰/۰۰۱ns
خطا	۱۲	۰/۲۸	۸/۴۴	۰/۰۰۰۷
ضریب تغییرات	-	۴/۵۵	۸/۴۲	۷/۳۶

اعداد میانگین مربعات به همراه معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ (*)، ۰/۰۱ (**)، ۰/۰۰۱ (***) و عدم معنی‌داری (ns) هستند.



شکل ۳- مقایسه اثرات برهمکنش تیمار سرب و گونه‌های گیاهی خارمریم و افسنطین بر محتوای سرب اندام هوایی و ریشه (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک). (حروف مشترک روی ستون‌ها نشان‌دهنده نبود اختلاف آماری معنی‌دار است ($p<0.05$))

بحث

نتایج نشان داد که در مورد ویژگی‌های رشد دو گیاه تنها اثرات برهمکنش سرب و نوع گیاه بر وزن تر و خشک ریشه و حجم ریشه معنی‌دار بوده است. با افزایش غلظت سرب، این ویژگی‌ها در خارمریم کاهش معنی‌داری یافتند و در بالاترین سطح آلودگی، کمترین وزن تر و خشک ریشه و حجم ریشه اتفاق افتاد. اما برای افسنطین تغییر معنی‌دار در این ویژگی‌ها دیده نشد. این پاسخ می‌تواند یکی از دلایل برای حضور موفق هر دو گیاه بر روی باطله-های معدنی در منطقه باشد. اثر تنش سرب بر رشد گیاه در ارتباط با جلوگیری از تقسیم یاخته و رشد یاخته‌های مریستمی ریشه و همچنین تحریک چوبی شدن دیواره یاخته واقع در ناحیه رشد طولی ریشه است (Abolghasemi *et al.*, 2020). Almeida *et al.* (2007) کاهش رشد ریشه نسبت به اندام هوایی در آلودگی سرب را با توجه به انباشت بیشتر سرب در ریشه نسبت به اندام هوایی و لیگنینی شده دیواره یاخته عنوان کردند. همچنین در قسمت‌هایی از دیواره مانند محل پلاسمودسماتا[1] که ضخامت کمتری دارد، انباشت سرب بیشتر رُخ می‌دهد. انباشت سرب روی دیواره باعث شکاف در آن و کاهش قدرت ارتجاعی و الاستیکی دیواره شده که در نهایت توقف رشد سلول و رشد اندام را در پی دارد (Ruley *et al.*, 2006). کاهش حجم ریشه نیز ناشی از کاهش تقسیم یاخته‌ای است که به کاهش زیتوده منجر می‌شود (Reichman, 2002). در این پژوهش انباشت بالاتری از سرب در ریشه خارمریم نسبت به افسنطین دیده شد که می‌تواند اثرپذیری بیشتر ریشه خارمریم در تنش سرب را توجیه نماید (شکل ۳).

بر اساس نتایج، اگرچه مقادیر عناصر پرمصرف در پاسخ به تنش سرب دارای اختلاف بوده اما اثرات متقابل سرب و نوع گیاه تنها در منیزیم ریشه معنی‌دار بود. در مورد منیزیم ریشه، گونه افسنطین تحت تأثیر افزایش غلظت نیترات سرب قرار نگرفت. اما در گیاه خارمریم تا غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیترات سرب، مقدار منیزیم ریشه افزایش یافت و با افزایش آلودگی به ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، درصد منیزم دوباره کاهش یافت که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. به گفته Naghavi *et*

1- Plasmodesmata

al. (2011) تنش سرب موجب برهم زدن کارایی پلی‌پپتیدهای خارجی کمپلکس آزادکننده اکسیژن در فتوسیستم II و جابجایی یون‌های منیزیم می‌شود. در سطوح بالاتر، سرب جایگزین منیزیم در مولکول کلروفیل شده و سبب کاهش دریافت نور به وسیله کلروفیل و کاهش فتوسنتز می‌شود (Sharma and Dubey, 2005). برای سایر عناصر پرمصرف مقادیر کلسیم، فسفر و پتاسیم در اندام هوایی و ریشه خارمریم بیشتر از افسنطین بود. این اختلاف در جذب عناصر نشان‌دهنده این است که مکانیسم‌های گوناگونی برای جذب آنها در قسمت‌های مختلف گیاه وجود دارد (Yilmaz *et al*., 2009). گفته شده که آلودگی خاک به فلزهای سنگین با افزایش تثبیت فسفر در خاک ممکن است حتی موجب کاهش جذب فسفر در گیاه شود (Zhang *et al*. 2004). برخی گیاهان با جذب بیشتر پتاسیم توسط دیواره یاخته و استفاده از آنها، تحمل خود را در برابر تنش فلزها افزایش می‌دهند (Sychta *et al*. 2018). افزون بر این، از دلایل افزایش انباشت پتاسیم توسط برخی گیاهانی که تحت تأثیر تنش‌های محیطی بوده، به حفظ تثبیت CO_2 فتوسنتزی و محافظت از کلروپلاست‌ها در برابر آسیب اکسیداتیو می‌شود اشاره کرد (Cakmak, 2005). این احتمال وجود دارد که گیاهان مورد بررسی در این پژوهش با افزایش جذب پتاسیم به عنوان یک سازوکار دفاعی، موجب تعدیل سطوح فلزها شده تا با تغییر غلظت آنها در محیط سازگار شوند.

در این پژوهش محتوای عناصر کم‌مصرف بیشتر تحت تاثیر تنش سرب قرار گرفت و این اثرات برای خارمریم روشن‌تر بود. گیاه فلزهای ضروری مانند آهن، روی، مس و منگنز را با توجه به گرادیان‌های غلظت و جذب انتخابی از خاک جذب می‌کند. این یون‌ها بر عملکرد بسیاری از آنزیم‌ها و متابولیسم یاخته اثرگذار هستند. همچنین نقش مهمی در سنتز پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و رنگدانه‌های فتوسنتزی داشته و در یکپارچگی ساختاری و عملکردی غشای یاخته شرکت دارند (Oves *et al*., 2016). مقایسه میانگین عناصر کم‌مصرف نشان داد که افزایش غلظت سرب خاک روی آهن و منگنز اندام هوایی و غلظت مس ریشه و اندام هوایی گیاهان اثرات متفاوتی داشته است. افزایش آلودگی سرب در خاک، موجب افزایش غلظت آهن در اندام هوایی خارمریم شد اما اختلاف معنی‌داری در غلظت آهن اندام هوایی افسنطین تحت تنش سرب دیده نشد. افزایش غلظت آهن ناشی از افزایش غلظت سرب در بررسی‌های سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Gopal and Rizvi, 2008; Asati *et al*., 2016). برخی عناصر کم‌مصرف مانند آهن در به حداقل رساندن اثرات سمی فلزهای سنگین نقش اساسی داشته و ورود آنها را به زنجیره غذایی محدود می‌کنند (ul Hassan *et al*., 2017). غلظت منگنز اندام هوایی خارمریم با افزایش غلظت سرب خاک کاهشی و در افسنطین ابتدا افزایشی و سپس کاهش یافت. با توجه به نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مربوط به هر گونه، مقادیر کمتر منگنز در گونه افسنطین نشان می‌دهد که این گونه بیشتر تحت تأثیر تنش سرب قرار گرفته است. نتایج بررسی اثر غلظت‌های مختلف سرب بر آهن، منگنز و روی در واریته‌های مختلف ذرت نشان داد که با افزایش غلظت سرب، میزان منگنز ریشه‌ها تا سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش و در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش یافت (Tafvizi and Motesharezadeh, 2014). در نتیجه کمبود منگنز، فتوسنتز کاهش می‌یابد و به دنبال آن با کم شدن مقادیر کربوهیدرات‌های محلول به ویژه در ریشه‌ها، عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Marschner and Rommheld, 1994). هر چند که میزان روی در گیاهان مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های سرب قرار نگرفت اما غلظت روی در ریشه گیاهان بیشتر و در خارمریم بالاتر از افسنطین بود. میزان بالاتر فلز روی در گیاهان ممکن است به دلیل افزایش آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز باشد که در زمان تنش اکسیداتیو و به ویژه در معرض آلودگی فلزهای سنگین رخ می‌دهد (Verma and Dubey, 2003). با افزایش غلظت سرب تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غلظت مس اندام هوایی و ریشه در خارمریم به بالاترین مقدار رسید و در ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش یافت. اما در افسنطین، بین تیمارها کاهش معنی‌داری از نظر مقدار مس اتفاق نیفتاد. در مطالعه Yilmaz *et al*. (2009) با افزایش غلظت سرب تا سطح ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مقدار مس ریشه در گونه *Solarium melongena* افزایش و در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش یافت.

نتایج نشان داد که غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه خارمریم بیشتر از گونه افسنطین بود و با افزایش غلظت سرب خاک، جذب آن در اندام هوایی و ریشه افزایش یافت. همچنین در هر دو گونه ریشه میزان بالاتری از فلز سرب را انباشت کرده بود. سرب جذب شده توسط گیاهان بیشتر در ریشه انباشته شده و بخش اندکی از آن به اندام هوایی منتقل می‌شود. دلایل گوناگونی در رابطه با محدودیت انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی ارائه شده است که شامل ناپویایی سرب به واسطه پکتین-های دارای بار منفی در دیواره سلولی، رسوب سرب در فضاهای بین سلولی به شکل نمک‌های نامحلول، انباشت سرب در غشای پلاسمایی و تجزیه در واکوئل‌های ریزودرمال و غشای یاخته‌ای است (Pourrut *et al*., 2011). با توجه به نتایج، فاکتور انتقال

سرب با افزایش غلظت آن در خاک کاهش یافت. بنابراین، تمرکز بیشتر سرب در ریشه بیشتر از اندام هوایی بوده و افزایش غلظت آنها در خاک باعث انباشت بیشتر در ریشه گیاهان شد. Motesharezadeh *et al.* (2015) و Alaboudi *et al.* (2018) گزارش کرده‌اند که با افزایش میزان سرب خاک، فاکتور انتقال سرب کاهش می‌یابد. فاکتور انتقال کمتر نشان‌دهنده انتقال فلز کمتر از ریشه به اندام هوایی است. بر اساس نتایج Amanifar *et al.* (2012)، از آنجایی که مسئول انتقال سرب به اندام هوایی آوندهای چوب بوده و عامل انتقال در آنها شیب هیدرواستاتیک و شیب پتانسیل آب بوده، لذا با کاهش رشد گیاه، میزان تبخیر و تعرق کاهش یافته و میزان انتقال در این آوندها کم می‌شود و در نتیجه باعث اختلال در انتقال سرب به اندام هوایی می‌شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این پژوهش، با افزایش غلظت فلز سرب در خاک، غلظت آن در اندام هوایی و ریشه گیاهان افزایش یافت. فاکتور انتقال کوچکتر از یک برای هر دو گونه تحت تأثیر تیمار سرب نشان از تمایل انباشت این فلز در ریشه بود. در گونه افسنطین به غیر از غلظت سرب ریشه که با افزایش سرب خاک بیشتر شد، در سایر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، اختلاف معنی-داری بین تیمار شاهد با سطوح آلودگی دیده نشد. این یافته نشان می‌دهد که گونه افسنطین کمتر از گونه خارمریم دچار تغییرات ناشی از تنش سرب شده است. از سویی، گونه خارمریم توانایی بالاتری را در جذب سرب نشان داد. روی هم رفته، از آنجا که هر دو گونه توانایی رشد و استقرار تا سطح ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب را داشتند، پتانسیل این را دارند که در مناطق آلوده به سرب و به ویژه مناطق معدنکاری شده زغال‌سنگ در شرایط میدانی مورد ارزیابی قرار بگیرند.

سپاس‌گزاری

این مقاله بخشی از رساله دکتری بوده که با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و نیز در دوره فرصت مطالعاتی داخل (گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران) به انجام رسیده و بدین‌وسیله قدردانی می‌شود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Abolghasemi, S., Naderi, R., Motesharezade, B. and Salami, S.A. (2020). Evaluation of lead accumulation in different parts of violet (*Viola tricolor*) and reaction of the plant to lead oxidative stress. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 51(8), 1997-2006. (In Farsi)

Aguilar, J., Dorronsoro, C., Fernandez, E., Fernandez, J., Garcia, I., Martin, F. and Simon, M. (2004). Soil pollution by a pyrite mine spill in Spain: evolution in time. *Environmental Pollution*, 132(3), 395-401.

Alaboudi, K.A., Ahmed, B. and Brodie, G. (2018). Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 63(1), 123-127.

Ali, H., Khan, E. and Sajad, M.A. (2013). Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.

Almeida, A.A.F.D., Valle, R.R., Mielke, M.S. and Gomes, F.P. (2007). Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19, 83-98.

Alvarenga, P.M., Araujo, M.F. and Silva, J.A.L. (2004). Elemental uptake and root-leaves transfer in *Cistus ladanifer* L. growing in a contaminated pyrite mining area (Aljustrel-Portugal). *Water, Air, and Soil Pollution*, 152(1-4), 81-96.

Amanifar, S., Aliasgharzad, N., Najafi, N., Oustan, S.H. and Bolandnazar, S. (2012). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on lead phytoremediation by Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Water and Soil Science*, 22(1), 155-170. (In Farsi)

Asati, A., Pichhode, M. and Nikhil, K. (2016). Effect of heavy metals on plants: an overview. *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management*, 5(3), 56-66.

Baker, A.J. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1-4), 643-654.

Barker, A.V. and Pilbeam, D.J. (2015). *Handbook of Plant Nutrition*. 2nd edition, Boca Raton, Florida, CRC Press.

Bouyoucos, C.J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. *Agronomy Journal*. 54: 464-465.

Bremner, J.M. (1996). Nitrogen-total. In D.L., Sparks, A.L., Page, P.A., Helmke, R.H., Loeppert, P.N., Soltanpour, M.A., Tabatabai, C.T., Johnston, M.E., Sumner (Ed.), Method of soil analysis. Soil Science Society of America, (pp. 1085-1122). Madison, Wisconsin, USA.

Cakmak, I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 521-530.

Chaney, R.L. (1989). Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food chains In B., Bar-Yosef, N.J.,

Barrow, J. Goldshmid, (Ed.), Inorganic contaminants in the vadose zone, (pp. 140–158). Springer, Berlin.

Chaoua, S., Boussaa, S., El Gharmali, A. and Boumezzough, A. (2019). Impact of irrigation with wastewater on accumulation of heavy metals in soil and crops in the region of Marrakech in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4), 429-436.

Emami, A. (1996). *Plant Analysis Methods*, Bulliten No. 982. Taat Publications, Tehran, Iran

Fallah Huseini, H., Hemati, A.R., Alavian, S.A. (2004). A review of herbal medicine: *Silybum marianum*. *Journal of Medicinal Plants*, 3(11), 14-24. (In Farsi)

Gandomi Nasrabadi, H., Abbaszadeh, S., Tayyar Hashtjin, N. and Yamrali, I. (2012). Study of chemical composition of essential oil of afsantine (*Artemisia absinthium*) and inhibitory effects of the essential oil and its aqueous and alcoholic extracts on some food borne bacterial pathogens. *Journal of Medicinal Plants*, 11(42), 120-127. (In Farsi)

Gopal, R. and Rizvi, A.H. (2008). Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere*, 70(9), 1539-1544.

Helmke, P.H. and Sparks D.L. (1996). Potassium. In D.L., Sparks, A.L., Page, P.A., Helmke, R.H., Loeppert, P.N., Soltanpour, M.A., Tabatabai, C.T., Johnston, M.E., Sumner (Ed.), Method of soil analysis. Soil Science Society of America, (pp. 551-574). Madison, Wisconsin, USA.

Lashkari Sanami, N., Ghorbani, J., Hodjati, S., Vahabzadeh Kebria, G. and Motesharezadeh, B. (In press). Seed germination of plants grown in coal mine wastes in response to Copper, Lead, and Cadmium stress. *Environmental Sciences*, (In Farsi)

Lamhamdi, M., El Galiou, O., Bakrim, A., Nóvoa-Muñoz, J.C., Arias-Estévez, M., Aarab, A. and Lafont, R. (2013). Effect of lead stress on mineral content and growth of wheat (*Triticum aestivum*) and spinach (*Spinacia oleracea*) seedlings. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(1), 29-36.

Loeppert, R.H. and Suarez, D.L. (1996). Carbonate and gypsum, In D.L., Sparks, A.L., Page, P.A., Helmke, R.H., Loeppert, P.N., Soltanpour, M.A., Tabatabai, C.T., Johnston, M.E., Sumner (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 3-Chemical Methods. Soil Science Society of America, (pp. 437-474). Madison, Wisconsin, USA.

Mahdavian, K., Ghaderian, S.M. and Torkadeh Mahani, M. (2016). The effect of different concentrations of lead on some physiological parameters in two populations of Harmal (*Peganum harmala* L.). *Journal of Cell and Tissue*, 6(4), 543-555. (In Farsi)

Marschner, H. and Romheld, V. (1994). Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant and Soil*, 165, 261-274.

Masto, R.E., George, J., Rout, T.K. and Ram, L.C. (2017). Multi element exposure risk from soil and dust in a coal industrial area. *Journal of Geochemical Exploration*, 176, 100-107.

Motesharezadeh, B., Aghaei, L. and Savaghebi, G.R. (2015). Effect of cadmium and lead application on uptake of these heavy metals and growth in two Pinto bean cultivars. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 7(2), 257-271. (In Farsi)

Motesharezadeh, B. and Savaghebi, G.R. (2014). *Phytoremediation or Green Remediation*, Tehran, University of Tehran Press.

Naghavi, F., Iranbakhsh, A. and Majd, A. (2011). The effects of zinc and lead on seedling growth of (*Glycine max* L.). *Plant and Ecosystem*, 7(28), 81-97. (In Farsi)

Najafi, N. and Sarhangzadeh, E. (2014). Effects of Soil Salinization and Waterlogging on the Concentrations of Some Macronutrients and Sodium in Corn Shoot. *Water and Soil Science*, 24(3), 259-275. (In Farsi)

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S. and Dean, L. (1954). Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture. United States Government. Print Office, Washington, D.C.

Oves, M., Saghir Khan, M., Huda Qari, A., Nadeen Felemban, M. and Almeelbi, T. (2016). Heavy metals: biological importance and detoxification strategies. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 7(2), 1-15.

Page, A.L. (1982). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.

Peng, J.S., Guan, Y.H., Lin, X.J., Xu, X.J., Xiao, L., Wang, H.H. and Meng, S. (2021). Comparative understanding of metal hyperaccumulation in plants: a mini-review. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(4), 1599-1607.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. (2011). Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 213, 113-136.

R Core Team (2019) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at http://www.R-project.org.

Reichman, S.M. (2002). The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese and zinc. In S.M., Reichman (Ed.), Symptoms and visual evidence of toxicity Melbourne Australian minerals and energy environment foundation. (pp. 22-26). Melbourne.

Rhoades, J.D. (1996). Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids. In D.L., Sparks, A.L., Page, P.A., Helmke, R.H., Loeppert, P.N., Soltanpour, M.A., Tabatabai, C.T., Johnston, M.E., Sumner (Ed.), Methods of Soil Analysis,

Part 3-Chemical Methods. Soil Science Society of America, (pp. 417-436). Madison, Wisconsin, USA.

Ruley, A.T., Sharma, N.C., Sahi, S.V., Singh, S.R. and Sajwan, K.S. (2006). Effects of lead and chelators on growth, photosynthetic activity and Pb uptake in *Sesbania drummondii* grown in soil. *Environmental Pollution*, 144(1), 11-18.

Ryan, J., Estefan, G., and Rashid, A. (2007). Soil and Plant Analysis Laboratory Manual. ICARDA.

Sharma, P. and Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 35-52.

Sychta, K., Słomka, A., Suski, S., Fiedor, E., Gregoraszczuk, E. and Kuta, E. (2018). Suspended cells of metallicolous and nonmetallicolous *Viola species* tolerate, accumulate and detoxify zinc and lead. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, 666-674.

Tafvizi, M. and Motesharezadeh, B. (2014). Effects of lead on iron, manganese, and zinc concentrations in different varieties of maize (*Zea mays*). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45(14), 1853-1865.

Thomas, G.W. (1996). Soil pH and soil acidity. In D.L., Sparks, A.L., Page, P.A., Helmke, R.H., Loeppert, P.N., Soltanpour, M.A., Tabatabai, C.T., Johnston, M.E., Sumner (Ed.), Methods of Soil Analysis. Soil Science Society of America, (pp. 475-490). Madison, Wisconsin, USA.

ul Hassan, Z., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Haider, M.Z., Adrees, M. and Hussain, A. 2017. Role of iron in alleviating heavy metal stress. In Naeem, M, Ansari, A.A., Gill, S.S. (Eds.) *Essential Plant Nutrients, Uptake, Use Efficiency and Management*. (pp. 335-350). Springer, Cham.

Verma, S. and Dubey, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164(4): 645-655.

Walkley, A. and Black, I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, 37(1), 29-38.

Yilmaz, K., Akinci, I.E. and Akinci, S. (2009). Effect of lead accumulation on growth and mineral composition of eggplant seedlings (*Solarium melongena*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 37(3), 189-199.

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, E. H., Zhang, X. H. and Wang, H.Z. (2004). Adaptable effects of phosphorus stress on different genotypes of faba-bean. Acta Ecologica Sinica, 24(8), 1589-1593.