نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۷، پاییز ۱۳۹۶ / صفحات: ۹۲-۷۶

بررسی میزان تجمع کادمیوم و سرب درگیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*)

سمیرا اسکندری[۱]، مهراب یادگاری[۱*]، رامین ایرانی‌پور[۲]

[۱]گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

[۲]مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/٤/۲ 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 پارک ها 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، ٤۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک) بود. نتایج نشان داد که سطوح مختلف سرب وکادمیوم، تأثیر معنادار برخصوصیات 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 کادمیم 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 درکیلوگرم) 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

بهره‌گیری از گیاهان برای استخراج فلزات سنگین از خاک، روشی نو و امیدبخش برای بهسازی خاک های آلوده می‌باشد و اصطلاحاً گیاه پالایی[۲] نامیده می شود. پاکسازی محیط به صورت درجا[۳]، 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 می باشند، استفاده می شود (Abdel-Salam et al., 2015). از جمله گیاهان بیش انباشتگر،

*نویسنده مسئول: mehrabyadegari@gmail.com

2- Phytoremediation

3- Ex-Situ

می‌توان به همیشه بهار، از تیره کاسنی (Compositae) اشاره نمود که گل‌های بدون کاسبرگ آن در فارماکوپه‌ها به‌عنوان دارو معرفی شده اند 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) و رنگدانه‌های کارتنوئید، جزء اصلی مواد دارویی هستند (Bunghez 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 (Borghei et al., 2011; Chhotu et al., 2009).

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 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 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 زنجیره‌ی 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 Sinegani 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 ٤ 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، ٤۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک بودند. این آزمایش به صورت کشت گلدانی (مجموعاً ٦٤ گلدان)، در بهار و تابستان سال زراعی۱۳۹٤ در مزرعه‌ی تحقیقاتی سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری شهرکرد انجام شد. موقعیت جغرافیایی منطقه، ۵۰ درجه و ٥٦ دقیقه شرقی و ۳۲ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی بود. بذرهای همیشه‌بهار رقم قزوین از شرکت پاکان بذر اصفهان

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 الک٤ میلی‌متری عبور داده شد. از خاک جمع آوری 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 انـدام‌هـای مختلـف: گیاهان به مدت تقریبی سه ماه در گلدان ماندنـد و در اوایل گل‌دهی همراه با ریشـه از خـاک جـدا شـدند و پس از شستشو با آب مقطر، هـر گیـاه بـه بخـش‌هـای هوایی و زمینی تقسیم شده، وزن تر هر کدام از آن‌ها به صورت جداگانه اندازه‌گیری شـد. سـپس نمونـه‌هـا در داخل پاکت‌های کاغذی در داخل آون و در دمـای ۷۵ درجه‌ی سلسیوس به مـدت ٤٨ سـاعت خشـک و در نهایت، وزن خشک بخش هوایی و زمینی اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری سـرب و کـادمیوم موجـود در بخـش هوایی گیاه: از پودر تهیه شـده از نمونـه‌هـای گیـاهی خشک شده، خاکستر تهیه و از آن بـرای انـدازه گیـری سـرب و کـادمیوم موجـود در بخـش‌هـای هـوایی نمونه‌های گیاهی استفاده شد (Davari et al., 2010).

اندازه‌گیری میزان کادمیوم و سرب بافت گیاه: میزان کادمیوم وسرب بافـت گیـاهی توسـط دسـتگاه جـذب اتمی اندازه‌گیری شد (Davari et al., 2010).

اندازه‌گیری میزان کـادمیوم و سـرب خـاک: بـرای اندازه‌گیری غلظت قابل جذب فلزات سنگین در خـاک از عصاره‌گیر دی‌اتیلن تری‌آمین پنتـا اسـتیک اسـید بـه همراه کلرید کلسیم و تری اتانول آمـین، اسـتفاده شـد. سپس غلظت فلزات سنگین به وسیله‌ی دستگاه جـذب اتمی اندازه گیری شد (Davari et al., 2010).

تجزیه و تحلیل آماری

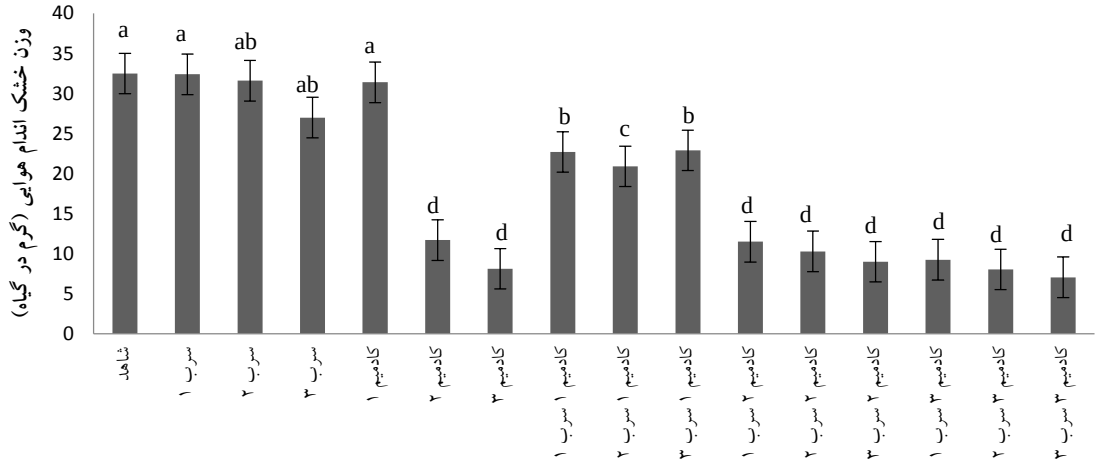
تجزیه و تحلیل داده‌ها با اسـتفاده از نـرم‌افزارهـای آماری SAS ver.8 و مقایسه میانگین داده‌هـا بـه روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سـطح احتمـال پنج درصـد انجـام شـد. شـکل‌هـا بـا اسـتفاده از نـرم افزار Excel 2013 رسم گردید.

جدول ۱: مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی	کربن آلی	اسیدیته	سرب	کادمیوم	فسفر	پتاسیم	نیتروژن	روی	منگنز	آهن	مس
دسی‌زیمنس بر متر	درصد	میلی‌گرم بر کیلوگرم									
۰/۹۱۱	۸/۰٤	۰/۳۵۱	۱/۱۲	۰/۹۳	۵/۱	۲۵۷	۰/۰۲۹	۰/۵۵	۷/۳٤	۲/۸۹	۰/۹٦

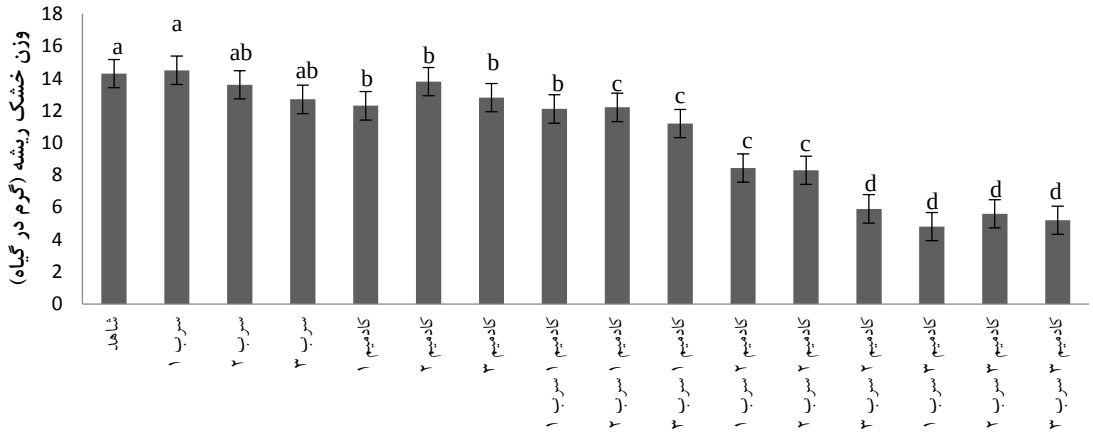
نتایج

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



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

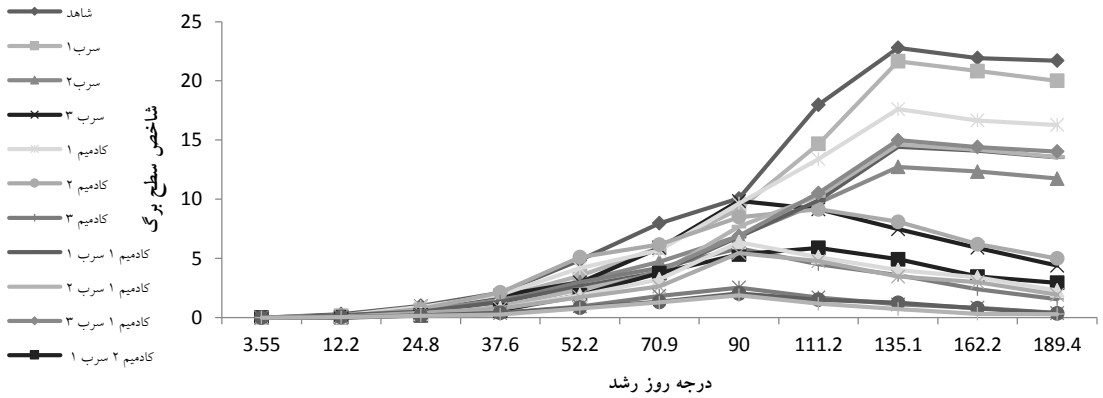
وزن خشک ریشه: اثر کادمیوم بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). سرب بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به گیاهان شاهد و کمترین وزن ریشه مربوط به گیاهان تحت تیمار با بیشترین سطوح آلودگی ترکیبی کادمیوم (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سرب (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بدست آمد.



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

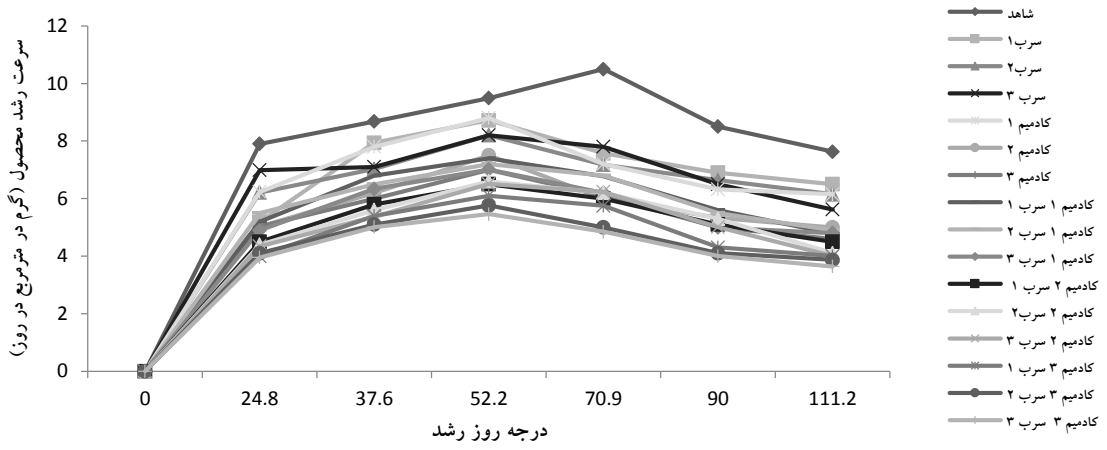
شاخص سطح برگ: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش کادمیوم و سرب بر شاخص سطح برگ و نیز اثرات ساده کادمیوم و سرب بر این صفت فیزیولوژیکی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در گیاهان تحت تیمار ترکیبی کادمیوم (۲۵، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و

سرب (۱۰۰،٤۰، 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 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).



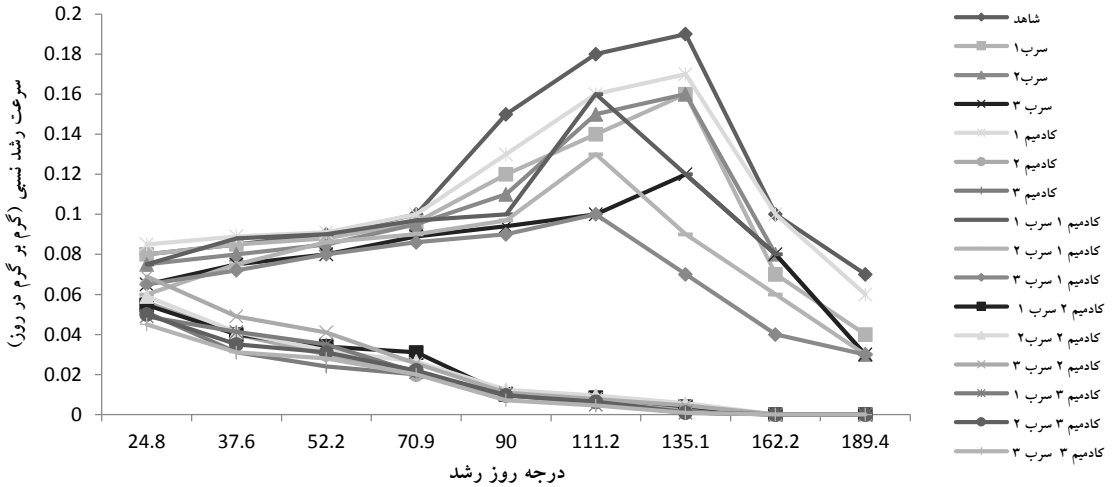
شکل ۳: روند تغییرات شاخص سطح برگ در گیاه همیشه‌بهار تحت کادمیوم و سرب

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 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 ۱٤۰، روند نزولی در این تیمارها مشاهده شد (شکل ٤).



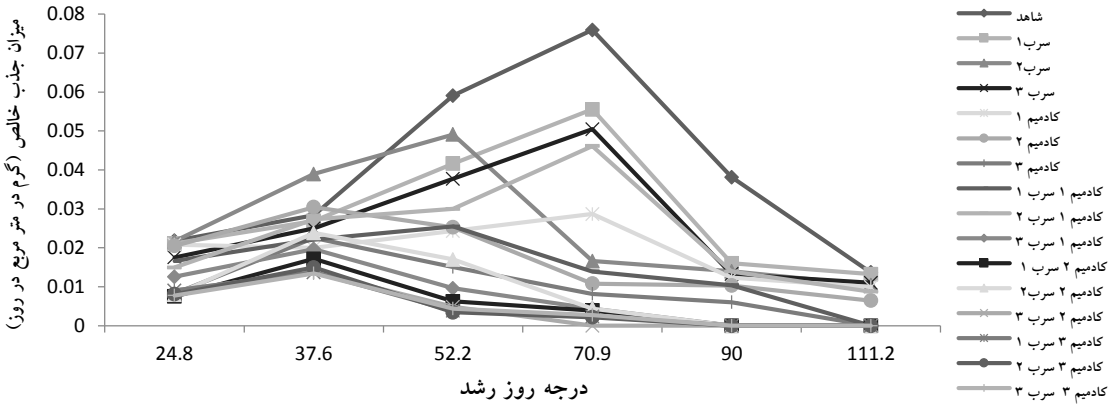
شکل ٤: روند تغییرات سرعت رشد در گیاه همیشه‌بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب.

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 معنی‌دار 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 کادمیوم (۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، ترکیبی کادمیوم (۲۰، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب (۴۰، ۱۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم 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 (شکل۵).



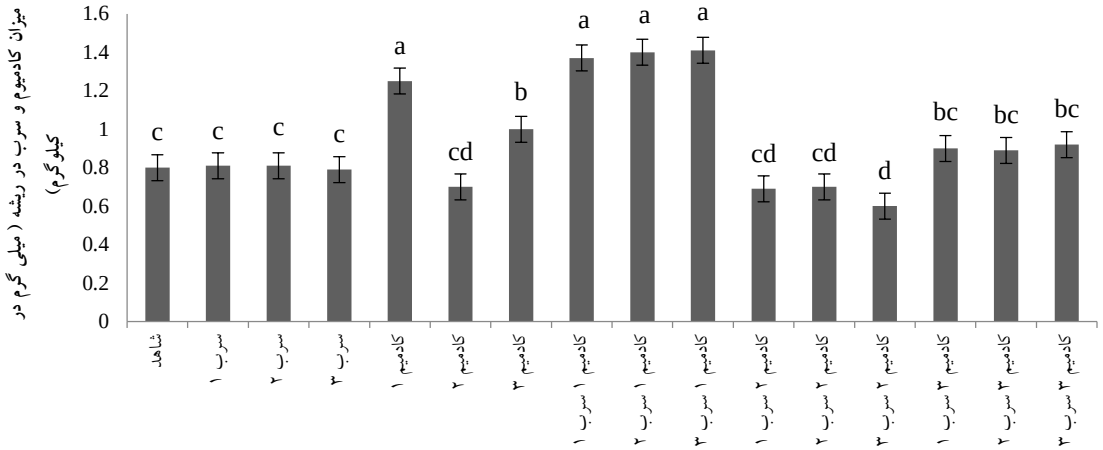
شکل ۵: روند تغییرات سرعت نسبی رشد در گیاه همیشه بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب.

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 معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان جذب خالص در گیاهان تحت تیمارهای ترکیبی کادمیوم (۲۰ و۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب (۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از لحاظ مقادیر کمتر و روند نزولی‌تری 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 ٦).



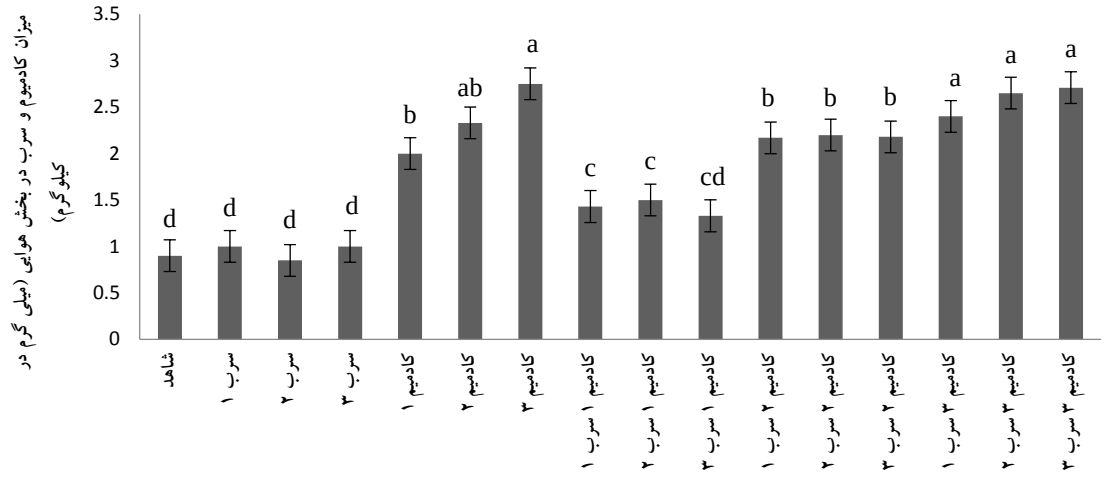
شکل ٦: روند تغییرات میزان جذب خالص در گیاه همیشه بهار تحت تیمارهای کادمیوم و سرب

مقدار کادمیوم و سرب در ریشه: برهمکنش کادمیوم و سرب در سطح احتمال یک درصد بر مقدار کادمیوم و سرب در ریشه گیاهان، معنی‌دار بود (جدول ۲). اثرات کادمیوم و سرب بر میزان تجمع این فلزات در ریشه در شکل هفت نشان داده شده است. در بین اثرات منفرد و متقابل کادمیوم و سرب گروه بندی‌های متفاوتی دیده شد به‌طوری که در دسته‌بندی میانگین تیمارهای اعمال شده دستجات مختلفی دیده شد. دامنه‌ی تغییر مقدار کادمیم در ریشه از ۰/۸ mg/kg تا ۱/٤۱ mg/kg متفاوت بود (شکل ۷).



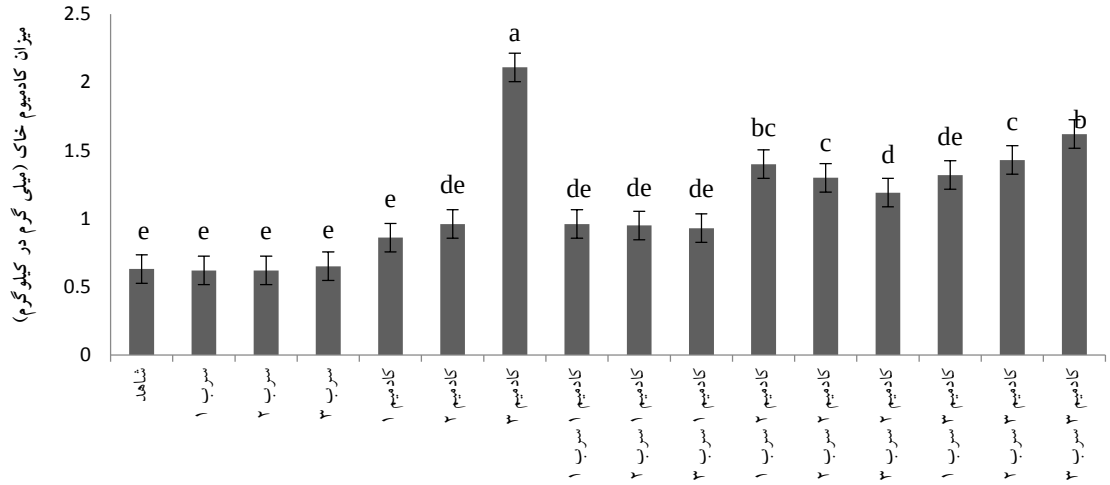
شکل ۷: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین های کادمیوم وسرب در ریشه گیاه همیشه بهار

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، معنی‌دار بود (جدول۲). 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 سرب گروه بندی‌های متفاوتی دیده شد. دامنه تغییر تجمع کادمیم در بخش‌هوایی از ۰/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم تا ۲/٦٥ میلی‌گرم در کیلوگرم متفاوت بود. به‌طوری‌که در دسته‌بندی میانگین تیمارهای اعمال شده دستجات مختلفی دیده شد (شکل ۸).



شکل۸: تأثیر سطوح تیماری کادمیوم و سرب بر میانگین‌های کادمیوم و سرب در بخش هوایی گیاه همیشه بهار

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 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).



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

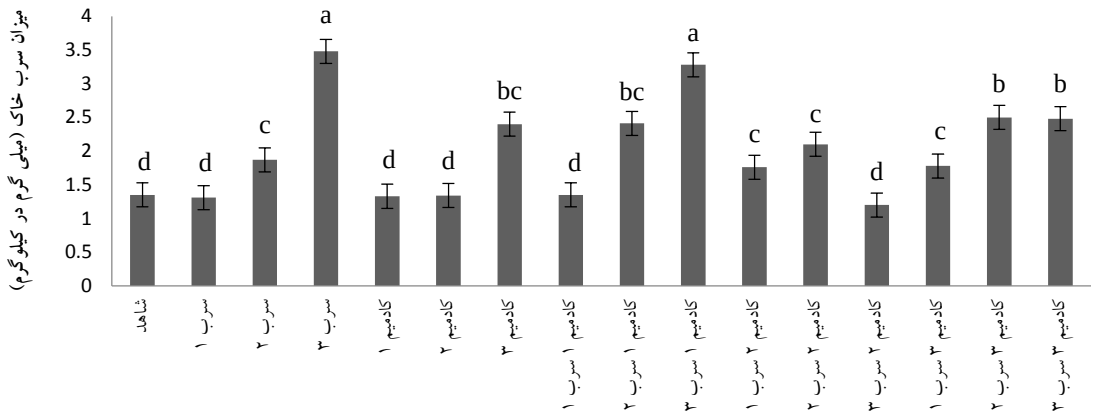
جدول ۲: تجزیه واریانس میانگین مربعات میزان جذب خالص، سرعت رشد نسبی، سرعت رشد محصول، شاخص سطح برگ، وزن خشک بخش هوایی و ریشه؛ میزان سرب و کادمیوم در بخش‌های گیاهی و خاک گیاهان همیشه بهار تحت تیمارهای مختلف کادمیم و سرب.

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک اندام‌هوایی	وزن خشک‌ریشه	کادمیوم اندام‌زمینی	کادمیوم اندام هوایی	سرب اندام‌زمینی	سرب اندام‌هوایی	سرب خاک	کادمیوم خاک	سرعت رشد نسبی	میزان جذب‌خالص	شاخص سطح برگ	سرعت رشدمحصول
سرب	۳	۲۳/۶۳*	۶/۷۴**	۰/۰۱**	۰/۰۱**	۸/۵**	۹/۲۸**	۸/۸۲**	۲/۳۷**	۷/۲**	۲/۲**	۴/۸۲**	۳/۵۷**
کادمیم	۹	۲۴/۸۷**	۳۹۵/۶*	۲/۱۵**	۱۶/۲۴**	۱/۷۴**	۱/۰۳**	۳/۵۳**	۱۲/۱**	۴۵/۵۱**	۱۴/۲**	۳۰/۴۱**	۲۲/۵۶*
سرب× کادمیم	۹	۵۹/۹۲**	۲/۵۷^{ns}	۰/۰۱**	۰/۰۲**	۰/۱۸**	۰/۴۱**	۲/۰۱**	۱/۳۶**	۸/۸۱**	۲/۴۱**	۴/۳۵**	۳/۹۴**
خطا	۴۸	۸/۹۲	۱/۸۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۰۳۱	۰/۰۶	۰/۰۴۵
ضریب تغییرات		۱۶/۵	۱۳/۸	۳/۴۲	۲/۶۲	۲/۷۱	۱۱/۳۲	۵/۸۱	۱۱/۸	۱۲/۲	۱۰/۸	۱۱/۲	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)	کادمیم خاک (٤)	سرب ریشه (٥)	کادمیم ریشه (٦)	سرب اندام هوایی (۷)	کادمیم اندام هوایی (۸)	میزان جذب خالص (۹)	سرعت رشد نسبی (۱۰)	سرعت رشدمحصول (۱۱)	شاخص سطح برگ (۱۲)
۱	۱											
۲	۰/۸۹**	۱										
۳	۰/۱۷ns	۰/۱۳ns	۱									
٤	-۰/۸**	-۰/۷٦**	۰/۰۳ns	۱								
٥	۰/۲۷*	۰/۲۷*	۰/٥٨**	۰/۰٦	۱							
٦	۰/۳۷*	۰/٤٤**	۰/۱۷ns	-۰/۳۹*	۰/۱۸ns	۱						
۷	-۰/۲۹*	-۰/۳۲*	۰/٤٥**	۰/٥٦**	-۰/٦٤**	-۰/۱۸ns	۱					
۸	-۰/۹۲**	-۰/۹**	۰/۱۱ns	۰/۷۹**	-۰/۳۹*	-۰/۳٥*	۰/۲۳ns	۱				
۹	۰/۸**	۰/۸۲**	-۰/٤*	-۰/٥٥**	-۰/۱۹ns	-۰/۳۳*	-۰/۱٤ ns	-۰/٤٤**	۱			
۱۰	۰/٤*	۰/٦۱**	-۰/٥۳**	-۰/٦۲**	-۰/۲۳ns	-۰/۳۷*	-۰/۲۲ ns	-۰/۳۷*	۰/٤*	۱		
۱۱	۰/٥۷**	۰/۷۹**	-۰/٦٦**	-۰/۷۱**	-۰/۳۳*	-۰/٤۹**	-۰/۱۸ ns	-۰/٤۱*	۰/٥٦**	۰/۷۷**	۱	
۱۲	۰/۹۲**	۰/۹٤**	-۰/۷٥**	-۰/۸۲**	-۰/٥۲**	-۰/٥۲**	-۰/۲۹ ns	-۰/٥۸**	۰/۳۳*	۰/۸۲**	۰/۹٥**	۱

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.



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

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 داده شده است. کمترین وزن خشک بخش هوایی(۳۲/۵ گرم) در تیمار ترکیبی کادمیوم (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب(۲۵۰ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در کیلوگرم) و سرب (۲۵۰ میلی‌گرم 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 کلروپلاست ها، کاهش تعداد گراناها، تیلاکوئیدها 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)

کاهش متابولیسم کربوهیدرات‌ها (Vassilev et al., 2005)، تغییر در فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی (Sekara et al., 2005)، اختلال در حرکت پتاسیم و آبسزیک 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). علایم 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 شکل۳ 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 علایم سمیت در گیاه دیده شد (Yadegari et al., 2013).

سرعت رشد محصول: سرعت رشدمحصول افزایش وزن یک پوشش گیاهی درواحد سطح درواحد زمان می‌باشد ومنحنی آن از حاصلضرب مقادیر تجمع مادهٔ خشک درمقادیر سرعت رشد نسبی براساس تعداد روز پس ازکاشت بدست می‌آید. حداکثر مقدار سرعت رشد محصول (تندترین شیب منحنی) زمانی بدست می‌آید که گیاه به اندازهٔ کافی بلند یا متراکم شده باشد تا بتواند حداکثر بهره‌گیری از منابع محیطی را انجام دهد. حداکثر این میزان پس ازکاشت، در زمان حداکثر رشد رویشی بوجود آمده است (شکل٤). **سرعت رشد نسبی**: این شاخص درمراحل اولیه رشد کم بوده و با توسعهٔ سطح برگ وجذب 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 وسیله‌ی 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 روز رشد تقریبی ۱۲۰)، نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند، ولی با رسیدن به درجه روز رشد حدود ۱٤۰، روند نزولی در این تیمارها مشاهده شد (شکل ٤)، که می‌تواند به این دلیل باشد که با بیشتر شدن سن گیاه، قسمت زیادی ازساختمان 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 کادمیم به لحاظ سمیت بیشتر است. نتایج تحقیق حاضر با گزارشات صورت پذیرفته در مورد اثرگذاری

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

میزان جذب خالص: عبارت است از مقدار مادهٔ ساخته شده خالص در واحد سطح برگ درواحد زمان. مقدار آن از تقسیم سرعت رشد محصول بر شاخص سطح برگ بدست می‌آید. میزان جذب خالص، همچنین بیانگر میزان مواد معدنی است که گیاه درطول دورهٔ رشد خود بدست می‌آورد. این شاخص همراه با افزایش سن گیاه کاهش می‌یابد، که علت آن مربوط به پیری برگ‌ها و سایه‌اندازی آن‌ها روی هم و کاهش سطح فتوسنتزی فعال است. هنگامی میزان جذب خالص به حداکثر می‌رسد که تمام برگ‌ها درمعرض نور کامل خورشید قرارگیرند (Muriefah, 2008). باگذشت زمان وافزایش تعداد روز پس ازکاشت، شاخص میزان جذب خالص تحت تیمارهای مختلف کاهش یافت (شکل ٦). بیشترین میزان جذب خالص در تیمار شاهد و غلظت ٤٠ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک خشک سرب، در درجه روز رشد ۱۳۵/۱ به میزان تقریبی ۰/۰۷ گرم در مترمربع در روز، بدست آمد (شکل٦). با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان فتوسنتز کمتر می‌شود، لذا قادر به استفاده کامل از انرژی خورشیدی نمی‌باشند. 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 میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود که نشان‌دهنده 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 می‌شود. بدلیل تحرک بیشتر کادمیوم، تجمع آن بیشتر از سایر فلزات سنگین در گیاهان و به خصوص در برگ ها بیشتر از ریشه هاست (Lone et al., 2008). به‌دلیل مکانیسم‌های محافظتی گیاه که از انتقال سرب به بخش‌های بالایی جلوگیری می‌کند، میزان تجمع این فلز در بخش‌های گیاهی از الگوی زیر تبعیت می‌نماید: ریشه > ساقه > برگ>میوه>دانه (Sekara et al., 2005). در آزمایش تعیین اثرات کادمیوم بر گیاه دارویی خارمریم[1] نتایج نشان داد که اثر بازدارندگی قابل توجهی در تمام سطوح کادمیوم نسبت به شاهد وجود دارد و افزایش غلظت کادمیوم تا ٦۰۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی‌داری در جوانه زنی، طول ساقه و ریشه نشان داد (Khatamipour et al., 2011).

میزان کادمیوم وسرب اندام هوایی: میزان انباشت سرب در گیاه، مانند کادمیوم متأثر از غلظت آن در خاک می‌باشد (Zhang et al., 2014)، اما غالباً میزان انباشت سرب در ریشه بالاتر از ساقه و برگ‌ها است. وجود بیشتر فلز سنگین در ریشه، تأثیر سمّی بر ریشه و جلوگیری از رشد آن دارد که در اثر کاهش رشد ریشه، میزان جذب آب و یون‌های معدنی کاهش می‌یابد که نتیجه‌ی آن کاهش رشد عمومی گیاهان و به تبع آن کاهش وزن شاخساره گیاه می‌باشد (Zhao et al., 2012).

میزان کادمیوم وسرب خاک: افزایش غلظت فلزات سنگین در شاخساره‌ی گیاهان، ناشی از افزایش غلظت آن‌ها در خاک، در تحقیقات پیشین گزارش شده است و بین غلظت‌های اضافه شده‌ی فلزات سنگین به خاک و غلظت بافتی آن‌ها همبستگی مستقیم وجود دارد (Karimi et al., 2012). افزایش غلظت کادمیم در خاک باعث افزایش غلظت بافتی این عناصر در گیاهان می‌شود و در برخی از گونه‌های کلم[2]، کاهو[1] و

1- *Silybum marianum* L.
2- *Brassica oleracea* L.

توتون[2]، تجمع سطوح کادمیم در برگ‌ها نسبت به ریشه‌ها بیشتر است (Lone et al., 2008). با افزایش غلظت کادمیوم، میزان کادمیم در بخش هوایی افزایش یافت. علت تجمع بیشتر کادمیم در بخش هوایی بدلیل سهولت حرکت آن در گیاه است (Yadegari et al., 2013; Moustakas et al., 2011)، 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). افزایش‌غلظت فلزات سنگین درشاخساره‌ی گیاهان، ناشی‌از 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 and Moraghebi, 2011; Karimi 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). دامنه 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 کادمیوم بود. از دلایل جذب کمتر سرب، عدم قابلیت دسترسی سرب در خاک های قلیائی توسط گیاهان مختلف می‌باشد (Pulford and Watson, 2003; Borghei et al., 2011). ضمن آن‌که با استفاده از مکانیسم‌های داخل سلولی، سرب در داخل واکوئل‌های سلول‌های ریشه مهار شده و از حرکت و خروج آن از ریشه به سمت آوندهای چوبی جلوگیری می‌شود (Agrawal and Sharma, 2006).

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 کادمیوم 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 کادمیوم 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 علّت 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).

1- *Latuca sativa* L.
2- *Nicotiana tabacum* L.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج این تحقیق مشخص گردید که گیاه همیشه بهار، گیاه‌پالایی کادمیم را به صورت گیاه جذبی و گیاه‌پالایی سرب را به صورت گیاه تثبیتی انجام می‌دهد. نتایج این آزمایش نشان داد که سطوح مختلف فلزات سنگین سرب و کادمیم تأثیر معنی‌داری 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، به‌طوری 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 بخش‌های هوایی همراه با سرب بیشتری به بخش‌های 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 همیشه‌بهار، پیشنهاد می‌شود در مناطق با آلودگی کادمیوم حداکثر تا ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در خاک و سرب تا ۲۵۰ میلی‌گرم درکیلوگرم خاک؛ جهت پالایش خاک، استفاده بشود.

References

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 Biolology. 50: 307-310.

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* hemnsl and *Ageratum conyzoides* L. Annals West University Timisoara Biology. (2): 149-158.

Davari, M., Homaee, M. and Khodaverdiloo, H. (2010). Modeling phytorememediation 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. Bioresoures 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.

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.

Małkowski, 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 metaliferus 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 Agrcuture 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 (*Cucumus 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., Poniedzialeek, 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.