DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijfrpr.2013.106400

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران
جلد ۱۱ شمارهٔ ۱، صفحهٔ ٦٧-٦٠، (۱۳۹۲)

# بررسی توان گیاه‌پالایی سه گونه‌ی *Salix acmophylla*، *S. alba* و *S. fragilis* از سرده‌ی بید تحت تنش عنصر سرب

**سمانه هوشمندخانقاهی[۱]، عباس قمری‌زارع[۲*]، آناهیتا شریعت[۳] و خدیجه کیارستمی[٤]**

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه الزهرا (س)

۲*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست‌الکترونیک: ghamari-zare@rifr-ac.ir

۳- کارشناس‌ارشد مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

٤- دانشیار پژوهش، دانشگاه الزهرا (س)

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۸ تاریخ پذیرش:۹۲/۱/۲۰

## چکیده

سرب یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های محیط‌زیست است. این عنصر قابلیت ماندگاری بالایی در خاک دارد و برای گیاهان، حیوانات و انسان سمی می‌باشد. یکی از روش‌های حذف سرب از خاک، کاشت گیاهان انباشته‌کننده‌ی این عنصر است. پژوهش حاضر میزان تحمل سه گونه‌ی بید را در اثر افزایش غلظت عنصر سمی سرب و اثرات جذب آن روی صفات فیزیولوژیک مقدار قندهای محلول، پرولین آزاد و صفات مورفولوژیک کلروفیل کلرا بررسی کرد. نهال‌های ۱۳۰ روزه سه گونه *Salix alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis* با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار سرب تیمار شدند. هفتاد و پنج روز پس از اعمال تیمارها، مقدار قندهای محلول، پرولین آزاد، کلروفیل کل و سرب در برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری شد. کلیه آزمایش‌ها در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام شد. بیشترین میزان جذب سرب در برگ *S. alba* ( mg/kg ۳۱۱/۹۱dwt) و در ریشه *S. fragilis* (۱۶۳۱/ ۴mg/kg dwt) بود. همچنین گونه *S. alba* بیشترین میزان قند و پرولین را در تیمار 200 mM و 100 mM به‌ترتیب به‌میزان ۱۴۷۷/۷۸ و ۱۴/۱۸ میکروگرم بر گرم وزن خشک داشت. با توجه به این که میزان جذب عنصر سرب در برگ گونه *S. alba* و در ریشه گونه *S. fragilis* بیش از حد سمیت گیاه (۳۰۰-۳۰mg/kg dwt) بود و اثر قابل توجهی بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک نداشت، می‌توان از این گونه‌ها برای کاهش آلودگی‌های محیط‌زیست استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** بید، سرب، گیاه‌پالایی، قندهای محلول، پرولین، کلروفیل

## مقدمه

خاک به‌عنوان یکی از اجزای مهم محیط‌زیست مهمترین دریافت‌کننده پسماندهای صنعتی و کشاورزیست. این مواد به محض ورود به خاک جزئی از چرخه‌ای می‌گردند که به صورت‌های گوناگون حیات را تحت تاثیر قرار می‌دهند (رحمانی و همکاران، ۱۳۷۹). آلاینده‌ها ازجمله عوامل ایجاد اختلال در اکوسیستم به‌شمار می‌روند. از میان آنها فلزات سنگین به‌دلیل غیرقابل تجزیه بودن و آثار زیان‌بار فیزیولوژیک بر جانداران در غلظت‌های کم، حائز اهمیت ویژه هستند (Alloway, 1990). سرب یکی از فلزات خطرناک برای محیط‌زیست می‌باشد که از طریق فعالیت‌هایی مانند معدن، سوزاندن زغال سنگ، کارخانه‌های باتری‌سازی، اتومبیل‌ها، کودهای کشاورزی و علف‌کش‌ها وارد محیط می‌شوند (Verma & Dubey, 2003). سرب در مهمات‌سازی، ریخته‌گری، رنگ‌سازی، پوشش کابل‌ها، در سموم و در رادیوتراپی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مسمومیت سرب برای حیوان، انسان و گیاه شناخته شده است. این عنصر بعد از جذب توسط گیاه برای آن ایجاد

مسمومیت می‌کند و مسمومیت ناشی از سرب علائمی مشابه علائم کمبود آهن (زردی و کلروز) ایجاد می‌نماید (محمدی گلنکشی، ۱۳۷۶). سرب دارای اثرات شدیدی بر روی مورفولوژی، رشد و فتوسنتز در گیاهان می‌باشد. سطوح بالای سرب باعث ممانعت فعالیت آنزیمی، عدم تعادل آبی، تغییر در نفوذپذیری غشا و اختلال در جذب مواد مغذی می‌شود. سرب فعالیت آنزیمی را بوسیله واکنش با گروه سولفیدریل آنزیم در سطح سلولی ممانعت می‌نماید (Yadav, 2010). عنصر سرب در انسان بر روی آنزیم‌های خون‌ساز، سیستم عصبی، کاهش باروری در زنان، تغییر در اسپرماتوزوئیدزایی و غیر طبیعی شدن کروموزوم‌ها تأثیر دارد (محمدی گلنکشی، ۱۳۷۶).

گونه *S. acmophylla* به‌عنوان انباشته کننده عناصر سمی سرب، نیکل و مس معرفی شد. بنابراین این گونه بید نقش مهمی در پاک‌سازی آلوده‌کننده‌های فلزی دارد. این گیاهان می‌توانند مقادیر سمی فلزات را با القای آنزیم‌های متفاوت، پروتئین‌های تنش و فیتوکلاتین‌ها تحمل کنند (Ali *et al.*, 2002). مطالعات متعددی در زمینه بررسی توانایی گیاه بید در جذب فلزات سنگین انجام شده است. رشد و جذب فلزات سنگین در دو گونه *S. fragilis* و *S. viminalis* L. در شش نوع خاک با افزایش میزان عناصر سمی مورد بررسی قرار گرفت. غلظت ۸ عنصر در ریشه، ساقه و برگ و بیوماس خشک ریشه، تعداد برگ و طول ریشه برای بررسی و هیچ ممانعت رشدی برای هر یک از دو گونه مذکور مشاهده نشد. این موضوع مبین پتانسیل بالای این دو گونه برای مقاصد گیاه‌پالایی در گستره وسیعی از آلودگی را نشان می‌دهد. هر دو گونه مذکور سطوح بالای انباشتگی کادمیوم و روی را در قسمت‌های بالای زمین نشان دادند. عناصر کروم، مس، نیکل، منگنز، آهن و سرب عمدتا در ریشه‌ها یافت شدند (Vandecasteele *et al.*, 2004). البته تفاوت معنی‌داری در تولید بیوماس و پتانسیل گیاه‌پالایی بین گونه‌های *S. alba* و *S. viminalis* وجود داشت. در انباشته‌سازی ۵ فلز سرب، روی، جیوه، مس و کادمیوم گونه *S. Viminalis* مؤثرتر از گونه *S. alba* بود (Mleczek *et al.*, 2009).

دوازده ژنوتیپ بید برای جذب هفت عنصر سرب، کادمیوم، مس، روی، کروم، نیکل و کبالت متفاوت عمل کردند. این آزمایش نشان داد که فاکتورهای بسیاری انباشتگی فلزات سنگین توسط بید را تحت تأثیر قرار می‌دهد. درحالی‌که جذب برخی یون‌های فلزات افزایش می‌یابد و انباشتگی بعضی دیگر محدود می‌شود (Mleczek *et al.*,2009). یک گیاه ایده‌آل برای پاک‌سازی فلزات سنگین باید بیوماس بالایی داشته باشد تا هم تنش را تحمل کرده و هم غلظت قابل توجهی از فلزات سنگین را انباشته سازد (Pulford & Watson, 2002). گونه‌های بید به‌عنوان گیاهان فوق انباشته‌ساز فلزات سنگین شناخته می‌شوند. انباشته‌کنندگی گونه‌های بید بستگی به سن و ویژگی‌های مواد گیاهی (جذب یون‌های فلزی، ترکیب شیمیایی چوب و ویژگی‌های فیزیکی) آنها دارد (Mleczek *et al.*, 2008). در این پژوهش با هدف دستیابی به روشی مؤثر در حذف سرب از محیط، میزان تحمل سه گونه بید *S. alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis* در مقابل غلظت‌های مختلف سرب بررسی و تأثیر آن بر پارامترهای فیزیولوژیک میزان قندهای محلول، پرولین آزاد و صفت مورفولوژیک میزان کلروفیل کل در این گونه‌ها را مطالعه می‌نماید.

## مواد و روش‌ها

قلمه‌های سه گونه بید *S. alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis* در اسفند ۱۳۸۹ از کلکسیون بید در مجتمع تحقیقاتی البرز واقع در جنوب کرج تهیه شدند. قلمه‌ها به مدت یک روز در آب جاری قرار گرفتند و بعد به گلدان‌های حاوی ماسه بادی انتقال داده شدند. بعد از شروع جوانه‌زنی، آبیاری گلدان‌ها از محلول غذایی هوگلند که شامل عناصر ضروری رشد گیاه است، استفاده گردید (Moor, 1960). در مرحله ۱۳۰ روزگی تیمارهای سرب به‌صورت نیترات سرب ($Pb(No_3)_2$) در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در آب آبیاری اعمال شدند. پس از ۷۵ روز اعمال تیمارها، مقدار قندهای محلول، پرولین آزاد، کلروفیل کل و مقدار عنصر سرب در برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری گردید. اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول به روش آنترون (Irigoyen *et al.*, 1992) انجام شد، به‌طوری‌که میزان ۰/۱۵ گرم آنترون + ۱۰۰ ml اسید سولفوریک ۷۲٪ و ۰/۱ ml از محلول حاصل از آماده‌سازی نمونه گیاهی را برداشته و روی آن ۳ میلی آنترون تازه تهیه و اضافه شد. آنگاه به‌مدت ۱۰ دقیقه روی حمام آب جوش

قرار داده، و بعد از تشکیل ماده رنگی، میزان قند آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. سپس سنجش محتوای پرولین براساس وزن خشک انجام گردید (Bates, 1973). عناصر سنگین نیز توسط دستگاه ICP(Inductivity Coupled Plasma) مدل GBC Integre XL ساخت استرالیا به روش اکسیداسیون تر سنجش شد (Westerma, 1990). در این روش به یک گرم ماده خشک گیاه ۱۰ و ۵ و بعد ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک اضافه شد و در هر مرحله براساس روش حرارت‌های لازم اعمال گردید. سپس ml ۲ آب مقطر دوبار یون‌گیری شده و ml ۳ و ml ۱ آب اکسیژنه ۳۰٪ اضافه شد و در آخر ml ۵ اسید کلریدریک، ml ۱۰ آب دو بار تقطیر شده اضافه و بعد از ۱۵ دقیقه عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن ۴۲ به حجم ۵۰ml رسانده شد. میزان کلروفیل کل توسط دستگاه کلروفیل‌متر Hansatech model CL-01 ساخت انگلستان اندازه‌گیری گردید. کلیه آزمایش‌ها در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام شد. پردازش داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار رایانه‌ای SPSS (version 19) انجام شد.

## نتایج

شاخص‌های فیزیولوژیک در جذب عناصر سنگین سه گونه بید *S. alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis* و اثرات برهم‌کنش بین آنها در جذب عنصر سرب در برگ، ساقه و ریشه کاملا متفاوت ($p<0.01$) بود (جدول ۱). یعنی مقدار جذب و تجمع عنصر سرب در برگ، ساقه و ریشه در گونه‌های بید مورد مطالعه با یکدیگر متفاوت بود. گونه *S. alba* بیشترین مقدار سرب را در برگ به مقدار mg/kg dw ۳۱۱/۹۱ جذب کرد که بیش از سه برابر گونه *S. fragilis* و ۶ برابر گونه *S. acmophylla* بود. گونه *S. fragilis* نیز دارای جذب بیشتر سرب در ساقه و ریشه بود (جدول۲).

**جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از شاخص‌های فیزیولوژیک و جذب عنصر سرب در سه گونه بید *S. alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis***

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | میزان سرب در برگ | میزان سرب در ساقه | میزان سرب در ریشه | میزان قندهای محلول در برگ | میزان پرولین آزاد در برگ | میزان کلروفیل کل |
| گونه | ۲ | ۲۳۰۹۱۸/۰۰۵$^{**}$ | ۳۱۱۰/۹۱$^{**}$ | ۳۲۷۸۲۷۲/۶۹$^{**}$ | ۳۵۲۳۱۶/۴۵$^{**}$ | ۱۴/۱۲۷$^{**}$ | ۹/۵۱$^{**}$ |
| تیمار | ۳ | ۳۵۰۷۱۹/۰۹$^{**}$ | ۵۰۳۳/۰۷$^{**}$ | ۲۰۱۲۴۷۳۰/۹$^{**}$ | ۱۳۲۰۷۱۵/۴۸$^{**}$ | ۲۱/۳۵$^{**}$ | ۱۹۵/۵۴$^{**}$ |
| اثر متقابل گونه*تیمار | ۶ | ۲۵۷۰۸۷/۹۱$^{**}$ | ۱۵۴۱/۰۳$^{**}$ | ۱۵۶۶۲۳۶/۹۷$^{**}$ | ۳۷۷۵۴/۷$^{**}$ | ۱/۲۸ns | ۶/۱۶$^{**}$ |
| خطا | | ۷/۵۵ | ۵/۵۹ | ۵/۱۱ | ۶۲/۳۲ | ۱/۴۰۷ | ۰/۵۲ |

و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪، ns بیانگر غیرمعنی‌دار بودن منبع تغییر می‌باشد.

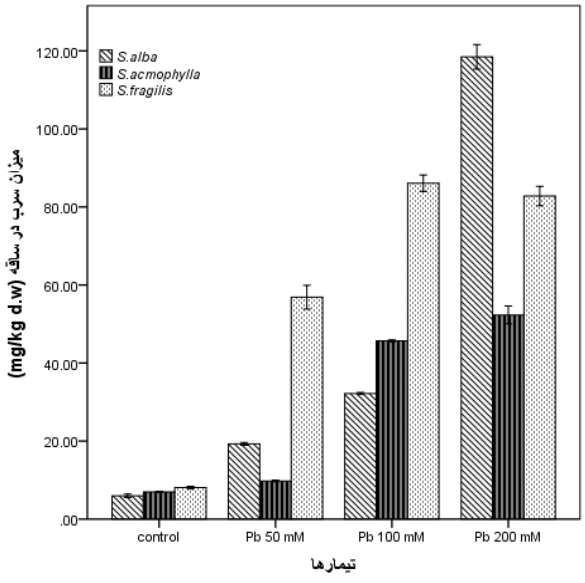
**جدول ۲- مقایسه میانگین داده‌های حاصل از شاخص‌های فیزیولوژیک و جذب عنصر سرب در سه گونه بید *S.alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis***

| صفات گونه | میزان سرب در برگ (mg/kg dw) | میزان سرب در ساقه (mg/kg dw) | میزان سرب در ریشه (mg/kg dw) | میزان قندهای محلول در برگ (µg/g dw) | میزان پرولین آزاد در برگ (µg/g dw) | میزان کلروفیل کل (µg/cm$^2$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *S. alba* | $^{a}$۱۳۸/۵±۳۱۱/۹۱ | $^{b}$۱۱/۵۴±۵۷/۵۶ | $^{c}$۱۷۶/۶±۶۳۰/۶۷ | $^{b}$۱۲۶/۱±۸۹۹/۸۶ | $^{a}$۰/۷۱±۱۱/۳۲ | $^{a}$۱/۱۷±۱۶/۵۹ |
| *S. acmophylla* | $^{c}$۱۰/۵۸±۵۵/۳۳ | $^{c}$۶/۳۹±۴۳/۶۸ | $^{b}$۴۸۷/۸±۱۳۹۲/۷۱ | $^{a}$۷۷/۱۴±۹۷۶/۵۸ | $^{b}$۰/۳۴±۹/۶۶ | $^{b}$۱/۳۴±۱۴/۸۶ |
| *S. fragilis* | $^{b}$۱۸/۵±۹۲/۲۲ | $^{a}$۳/۶۱±۷۵/۷۹ | $^{a}$۵۰۹/۲±۱۶۳۱/۴ | $^{c}$۹۹/۴±۶۴۸/۹۷ | $^{b}$۰/۴۱±۹/۲۸ | $^{b}$۱/۲۷±۱۵/۳۶ |

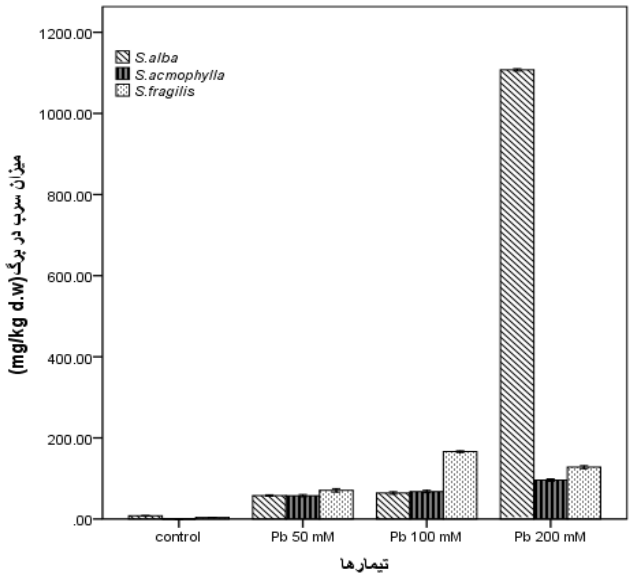
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ نیست. mg/kgdw= میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک است.

جذب ریشه‌ای سرب در هر سه گونه بالاتر از جذب آن در ساقه و برگ بود. بیشترین مقدار جذب سرب در برگ در بین تیمارها در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار نیترات سرب مربوط به گونه *S. alba* به میزان mg/kg dw ۱۱۰۷/۴۱ بود که با افزایش غلظت سرب جذب آن در هر سه گونه به‌طور چشمگیری افزایش یافت (شکل ۱). بیشترین جذب سرب در ساقه در دو گونه *S. alba* و *S. acmophylla* در تیمار Pb (200mM) به‌ترتیب به میزان mg/kg dw ۱۱۸/۴۸ و mg/kg dw ۵۲/۳۱ و در گونه *S. fragilis* در تیمار Pb (100mM) به میزان mg/kg dw ۸۶/۱ مشاهده شد که نشان‌دهنده رابطه مستقیم افزایش جذب سرب با افزایش غلظت سرب در محیط ریشه است (شکل ۲). البته وجود عنصر سرب در تیمار شاهد نیز به‌دلیل خطاهایی است که در هنگام مراحل برداشت و عصاره‌گیری است. گونه *S. fragilis* با جذب mg/kg dw ۴۴۵۶/۲۳ سرب در ریشه در تیمار 200 mM بیشترین جذب را در بین سه گونه نشان داد (شکل ۳).

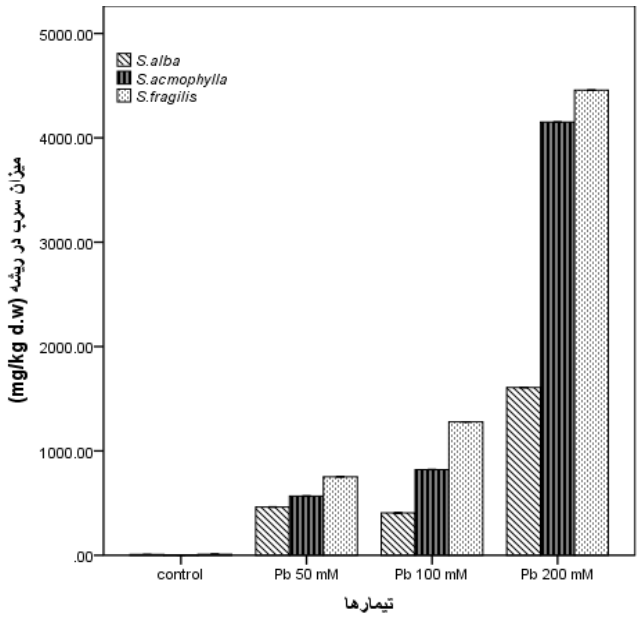
افزودن نیترات سرب ($Pb(No_3)_2$) به آب آبیاری، مقدار قند را در برگ‌های هر سه گونه بید نسبت به تیمار شاهد افزایش داد ($p<0.01$). بیشترین مقدار قند در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار وجود داشت (شکل ۴). میزان قندهای محلول در گونه *S. acmophylla* بیشتراز دو گونه دیگر و در حدود µg/g dw ۹۷۶/۵۸ بود (جدول ۲). میزان پرولین نیز در تنش سرب افزایش یافت و بیشترین میزان پرولین در تیمار 100 mM سرب وجود داشت، اما با افزایش بیشتر غلظت کاهش یافت (شکل ۵). میزان پرولین آزاد در گونه *S. alba* با تفاوت کمی، بیشتر از دو گونه دیگر و در حدود µg/g dw ۱۱/۳۲ بود (جدول ۲). همچنین میزان کلروفیل کل با افزایش غلظت عنصر سرب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. میزان کلروفیل در گونه *S. alba* بیشتر از دو گونه دیگر و به‌میزان $\mu g/cm^2$ ۱۶/۵۹ بود (جدول ۲). در هر سه گونه بید، بیشترین میزان کاهش کلروفیل در تیمار 200 mM سرب مشاهده شد (شکل ۶).



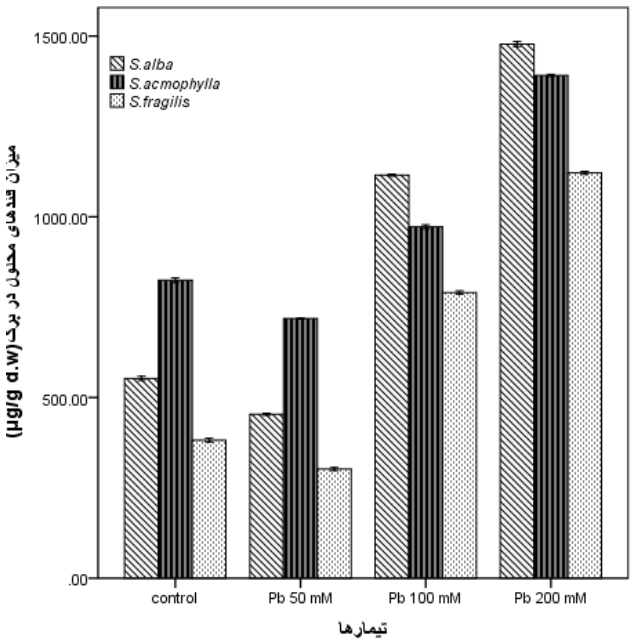

**شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین جذب در سه گونه بید (mg/kg dw)**



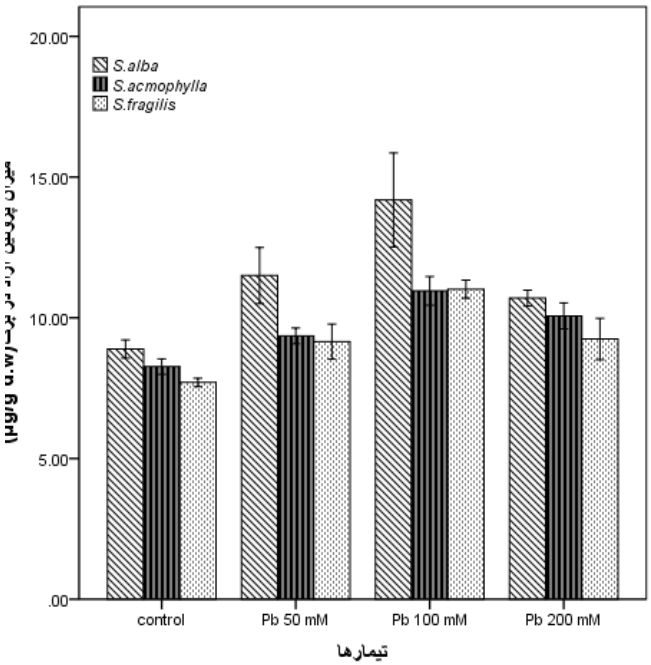

**شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین جذب و سرب در ساقه در برگ (mg/kg dw)**



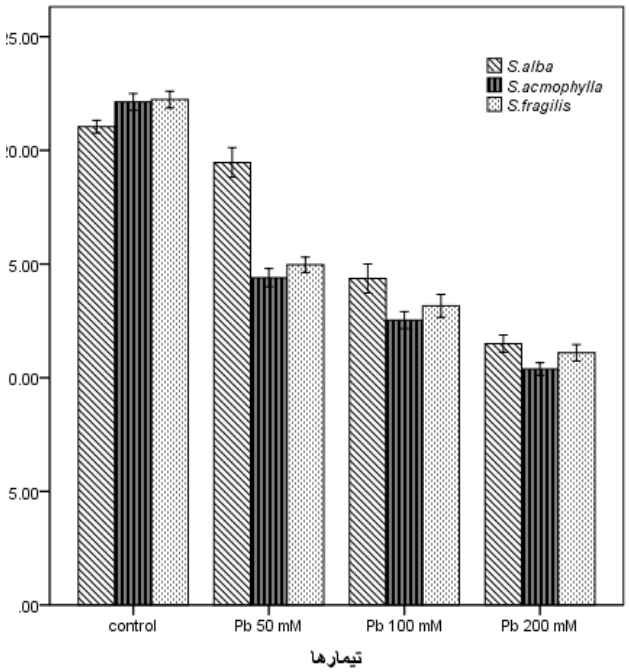

شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین جذب سرب در ریشه در سه گونه بید




شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین قندهای محلول در برگ سه گونه بید




شکل۵- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین پرولین آزاد در برگ سه گونه بید




شکل ۶- اثر تیمارهای مختلف عنصر سرب بر میانگین کلروفیل کل در سه گونه بید

## بحث

مهمترین هدف این پژوه مشخص نمودن مقدار سرب جذب شده در اندام‌های مختلف سه گونه *Salix alba*، *S. acmophylla* و *S. fragilis* بود. بیشترین جذب عنصر سرب در بین اندام‌های مختلف هر سه گونه، در برگ گونه *S. alba* و در تیمار 200 mM سرب به میزان mg/kg ۱۱۰۷/۴۱dw و بیشترین جذب سرب در ساقه در تیمار 200 mM سرب به میزان mg/kg dw ۱۱۸/۴۸وجود داشت. بیشترین مقدار جذب و تجمع سرب در ریشه بود که بالاتر از مقدار آن در ساقه و برگ است (جدول ۲). جذب ریشه‌ای سرب در بین گونه‌های مورد مطالعه به‌ترتیب بیش‌انباشتگی به‌صورت *S.fragilis*>*S.acmophylla*>*S. alba* به‌ترتیب با مقادیر ۴۴۵۶/۲۳، ۴۱۵۱/۳۵ و ۱۶۰۷/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک بود. حد سمیت عنصر سرب برای گیاه در محدوده ۳۰۰-۳۰ mg/kg dw (Levy *et al.*, 1999) می‌باشد. جذب عنصر سرب در برگ و ریشه گونه‌های مورد مطالعه، بدون بروز علائم مسمومیت گیاهان از مقدار فوق بیشتر بود که مبین پتانسیل هر ۳ گونه بید مورد مطالعه در جذب و انباشته‌سازی این عنصر سمی و آلاینده محیط‌زیست می‌باشد. در نتیجه می‌توان گونه *S. alba* را با جذب mg/kg dw ۱۱۰۷/۴۱ سرب در برگ و گونه *S. fragilis* را با جذب mg/kg dw ۴۴۵۶/۲۳ سرب در ریشه به‌عنوان گونه‌های انباشته‌کننده سرب معرفی نمود، به‌طوری‌که باتوجه به وسعت مناطق آلوده صنعتی و شهری نیازمند به کاشت گیاهان سریع‌الرشد و مقاومی مانند بید هستیم. در ضمن گونه *S. alba* با بهره‌گیری از تجمع بیشتر پرولین آزاد مکانیسم سازشی بهتری در تنش عنصر سرب داشت. البته با افزایش غلظت نیترات سرب در آب آبیاری، میزان قندهای محلول در برگ‌های هر سه گونه بید مورد مطالعه نیز افزایش یافت. بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم قندها و پخش مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. در مطالعه‌ای بر روی *Eucalyptus occidentalis* Labill. اثر تیمارهای مختلف کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد در غلظت‌های پائین بر میزان قندهای محلول افزوده شده اما در غلظت‌های بالاتر از میزان آن کاسته می‌شود. علت کاهش در غلظت‌های بالاتر احتمالاً به‌دلیل کاهش فتوسنتز یا تحریک سرعت تنفس می‌باشد (شریعت و همکاران، ۱۳۸۹). فلزات سنگین با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و درنتیجه اختلال در سرعت تعرق برگ منجر به بروز تغییرات فراساختاری اندامک‌های سلول و تغییر در رفتار آنزیم‌های کلیدی چند مسیر متابولیسمی ازجمله مسیر متابولیسم قند می‌شوند. با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به‌دنبال آن تجمع فلزات سنگین در سلول‌ها، محتوای قندهای احیاکننده در گیاه افزایش می‌یابد. این پدیده، احتمالاً مکانیسم سازشی گیاه برای حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط تنش فلزات سنگین است (Verma & Dubey, 2003). از آنجایی که در پژوهش حاضر با افزایش غلظت عنصر سرب بر میزان قندهای محلول افزوده شد و نیز علائم سمیت این عنصر در این گونه‌ها وجود نداشت، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه مکانیسم سازشی مؤثری در مقابله با تنش عنصر سرب دارد. در میان سه گونه مورد مطالعه گونه *S. acmophylla* با مقدار µg/g dw ۹۷۶/۵۸ قندهای محلول بیشترین سازگاری را با افزایش غلظت عنصر سرب داشت. افزایش قندهای محلول در اندام‌های هوایی می‌تواند به‌دلیل تبدیل نشاسته به قندهای محلول و یا کاهش مصرف آنها و یا کاهش در انتقال آوند آبکش باشد (Irigoyen *et al.*,1992). عمل فیزیولوژیک این قندها ممانعت از اتصال بین غشاهای مجاور هم در طول دوره تنش و نگه‌داری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی می‌باشد (Ho *et al.*, 2001).

با افزایش غلظت سرب در برگ‌ها میزان پرولین نیز در هر سه گونه افزایش یافت. پرولین در شرایط تنش خشکی، شوری، دمای بالا و فلزات سنگین یا حمله پاتوژن‌ها در اندام یا بافت گیاه انباشته می‌شود. در گیاه *Scenedesmu sarmatus* رشد و فعالیت برخی متابولیت‌ها در برابر فلزات سنگین مختلف در حضور و عدم حضور پرولین خارج سلولی مورد بررسی قرار گرفت. رشد سلول‌های گونه مذکور در حضور تمام فلزات ممانعت شد. اضافه کردن پرولین به محیط کشت اثرات سمی فلزات را به حداقل رساند(El-enany & Issa, 2001). پرولین دارای توانایی تنظیم اسمزی، پایدارسازی ساختار زیر سلولی و پاکسازی رادیکال‌های آزاد است. این متابولیت احتمالا اسیدی شدن سلول در اثر تنش یا تنفس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد تا انرژی لازم جهت بازیابی تأمین شود. سنتز بالای پرولین در طی تنش، نسبت $NAD(P)^+$ به NAD(P)H را با ارزشی

سازگار با متابولیسم در شرایط عادی نگه می‌دارد (Hare & Cress, 1996). چهار دلیل: تحریک سنتز آن از اسیدگلوتامیک، کاهش صادرات آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش، تخریب و اختلال در فرایند سنتز پروتئین برای افزایش تجمع پرولین در زمان تنش پیشنهاد شده است (Lutts *et al.*, 1996). در پژوهش حاضر گونه *S. alba* با میزان ۱۱/۳۲ µg/g dw پرولین، سازگاری بهتری را با حذف رادیکال‌های آزاد، تنظیم اسمزی و حفظ شرایط زیستی گیاه در تنش عنصر سرب داشت. البته تعیین نوع مکانیسم سازشی گونه‌های بید احتیاج به تحقیقات بیشتری دارد. در مطالعه‌ای آلودگی محیط ریشه‌ای با سرب در گیاه *Carthamus tinctorius* L. باعث کاهش رشد، محتوای کلروفیل و پایداری آن در برابر حرارت گردید. کاهش کلروفیل ممکن است به‌دلیل جذب ناقص عناصر ضروری مثل آهن و منیزیوم، صدمه به دستگاه فتوسنتزی و تسهیل تخریب کلروفیل به‌وسیله کلروفیلاز باشد (Suzan, 1999). در این پژوهش نیز با افزوده شدن بر غلظت عنصر سرب در تیمار 200 mM بیشترین کاهش در میزان کلروفیل کل مشاهده شد که نشان‌دهنده صدمه به دستگاه فتوسنتزی می‌باشد. کاهش بیوسنتز کلروفیل گونه‌های مختلف گیاهی در شرایط تنش فلزات سنگین به‌دلیل برهم‌کنش فلزات سمی با گروه SH– آنزیم‌های حیاتی نیز ثابت شده است (Ali *et al.*,2002). انتقال یون به اندام‌های هوایی و در نهایت تجمع آن در سلول‌های برگ باعث بروز علائم مورفولوژیک و فیزیولوژیک تنش یون در برگ می‌شود که از شاخص‌ترین این علائم کلروز است (Bergmann, 2004). این علائم به‌طور نسبی در مقایسه با شاهد در سه گونه بید مورد مطالعه در تیمارهای با غلظت 200 mM سرب نیز در این پژوهش دیده شد.

## سپاسگزاری

مؤلفان مراتب تشکر و قدردانی خود را از گروه مستقل تحقیقات صنوبر و درختان سریع‌الرشد مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به‌ویژه آقایان دکتر علیرضا مدیررحمتی، مهندس احمد همتی و مهندس رفعت‌الله قاسمی که قلمه‌های مورد استفاده را از کلکسیون بید گروه تأمین نمودند، اعلام می‌دارند. این پژوهش در گروه مستقل تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه مذکور انجام شده است.

## منابع مورد استفاده

- رحمانی، ح.، کلباسی، م.،حاج رسولی‌ها، ش.، ۱۳۷۹. آلودگی خاک به‌وسیله سرب حاصل از وسایل نقلیه در محدوده برخی از بزرگراه‌های ایران. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴(۴):۳۱-۴۱۴.
- شریعت، آ.، عصاره، م.، قمری‌زارع، ع.، ۱۳۸۹. اثر کادمیوم بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در *Eucalyptus occidentalis*. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۴(۵۳):۱۴۵-۱۵۳.
- محمدی گلنکشی، م.، ۱۳۷۶. بررسی روند اثرات فلزات سنگین بر منابع آبی استان خوزستان بعد از آتش‌سوزی چاه‌های نفت کویت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس.

- Ali, M.B., Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U. N., Singh, S. N. and Singh, S.P., 2002. Phytoremediation of lead, nickel and copper by *Salix acmophylla*Boiss.: Role of antioxidant enzymes and antioxidant substances. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 70(3):462–469.
- Alloway, B.J., 1990. Heavy Metals in Soils: Lead. Blackie and Glasgow.Ltd. London.p 177-196.
- Bates, I.S., Waldern, R. P., Teare, I. D., 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. Plant and Soil, 39:205-207.
- Bergmann, DC., 2004. Integrating signals in stomata development. Current Opinion in Plant Biol. 7: 26–32.
- El-enany, A.E. and Issa, A.A., 2001. Proline Alleviates Heavy Metal Stress in *Scenedesmusarmatus*. .Folia Microbiologica. 46 (3): 227-230.
- Hare, P.D., Cress, W.A., 1996. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. Plant Growth Regulation, 21(2): 79–102.
- Ho, S., Chao, Y., Tong, W., Yu, S., 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. Plant Physiology, 46:281-285.
- Irigoyen, J.J., Einerich, DW., Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 58-60.
- Levy, D.B., Redente, E.F. ,Uphoff, G.D., 1999. Evaluating the phytotoxicity of Pb-Zn tailings to big bluestem (*Andropogongerardiivitman*) and swichgrass (*Panicumvirgatum L.*). Soil Science, 164(6):363-375.

- Lutts, S.J., Kint, M., Bouharmount, J., 1996. Effect of various salts and mannitolon ion and prolin accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Orizasativum*) callus cultures. Journal of Plant Physiology, 149: 186-195.
- Mleczek, M., Łukaszewski, M., Kaczmarek, Z., Rissmann, I., Golinskia, P., 2008. Efficiency of selected heavy metals accumulation by *Salix viminalis*roots. Environmental and Experimental Botany, 65(1):48-53.
- Mleczek, M., Rissmann, I., Rutkowski, P., Kaczmarek, Z., Golinski, P., 2009. Accumulation of selected heavy metals by different genotypes of *Salix*. Environmental and Experimental Botany, 66: 289–296.
- Mleczek, M., Rutkowski, P., Rissmann, I., Kaczmarek, Z., Golinski, P., Szentner, K., Strazynska, K., Stachowiak, A., 2009. Biomassproductivityandphytoremediationpotential of *Salix alba* and *S. viminalis.* Biomass and Bioenergy, (34):1410-1418.
- Moor, R.H., 1960. Laboratory Guide for Elementary Plant Physiology. Burgess Pub., Minneapolis.
- Pulford, I.D., Watson, C., 2002. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees. Environment International, 29(4):529-540.
- Suzan, A., Sayed., 1999. Effects of lead and kinetin on the growth, and some physiologicalcomponents of safflower.Plant Growth Regulation, 29(3):167-174.
- Vandecasteele, B., Meers, E., Vervaeke, P., De Vos, B., Quataert, P., Tack, F., M.G. 2004. Growth and trace metal accumulation of two *Salix* clones on sediment-derived soils with increasing contamination levels. Chemosphere, 58(8): 995–1002.
- Verma,S., Dubey, R.S., 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice.BiologiaPlantarum,44(1): 117-123.
- Westerma., R.E.L., 1990. Soil Testing and Plant Analysis.SSSA. Madison Wisconsin, USA.
- Yadav, S.K., 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants, South African Journal of Botany, 76:167–179.