

ارزیابی تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گونه زینتی مینای چمنی (*Bellis perennis*) در خاک‌های آلوده به سرب

محمدصادق صادقی^۱، نیما احمدی^{۱*} و اسحاق کشتکار^۲

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۹)

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی آثار مقادیر مختلف فلز سنگین سرب بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه مینا چمنی و توانایی جذب این فلز توسط این گیاه (گیاه پالایی) بود. در این آزمایش تأثیر مقادیر مختلف فلز سرب (شش سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار بررسی شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت سرب سبب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر می‌شود. صفات رشدی مانند وزن خشک ریشه و شاخساره در گیاه با افزایش غلظت سرب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (به ترتیب ۷۰ و ۲۳ درصد). میزان مجموع کلروفیل *a* و *b* در گیاه با افزایش غلظت سرب کاهش یافت (۶۶ درصد). میزان تجمع پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نیز با افزایش غلظت سرب در گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۳۰، ۴۲ و ۴۲ درصد). با توجه به شاخص‌هایی مانند فاکتور تجمع زیستی، پتانسیل استخراج سبز، شاخص مقاومت و فاکتور انباشت‌گری، گیاه مینا چمنی قابلیت گیاه‌پالایی زیادی برای فلز سرب داشت. نتایج نشان داد که اعمال غلظت‌های زیاد سرب سبب اختلال در شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شد. گیاه آلوده به غلظت کم سرب تحمل بسیار خوبی نسبت به فلز سنگین سرب داشته و در غلظت‌های بیشتر، اگرچه شاخص تحمل آن‌ها حدود ۶۰ درصد کاهش یافت، اما نشان‌دهنده تحمل قابل قبول گیاه در غلظت‌های زیاد سرب بود. همچنین انباشت قابل توجه سرب در ریشه، نشان‌دهنده عمل تثبیت ریشه‌ای سرب بود که می‌تواند گیاه را برای پروژه‌های گیاه پالایی در محیط‌های آلوده به سرب، معرفی کند.

واژه‌های کلیدی: فلز سنگین، مقاومت گیاه، فاکتور انتقال، گیاه‌پالایی، جوانه‌زنی

مقدمه

پوشش گیاهی دارد، به‌گونه‌ای که می‌توان با دیدن پوشش گیاهی یک منطقه به وضعیت خاک آن پی برد (۳۶). عوامل متعددی می‌توانند واکنش‌های گیاه نسبت به فلزات سنگین را تحت تأثیر قرار دهند، که دو عامل مهم ویژگی‌های خاک و نوع گیاه هستند. حساسیت گیاهان نسبت به فلزات سنگین

گیاهان به‌عنوان تولیدکنندگان اولیه نقش مهمی در اکوسیستم‌ها بازی می‌کنند و به‌عنوان بخش مهمی از منابع طبیعی در دسترس ما هستند (۲۵). خاک در منابع طبیعی از ارزش و اهمیت زیادی برخوردار است زیرا ارتباط بسیار نزدیکی با

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ahmadin@modares.ac.ir

(۲۱ و ۳۹). سرب به طور طبیعی در محیط زیست وجود دارد و یکی از چهار فلزی است که بیشترین عوارض را بر سلامتی انسان دارد (۳۹).

خانواده آفتابگردان (*Asteraceae*) از نظر اقتصادی و زینتی خانواده مهمی به شمار می‌رود و گیاه مینا چمنی با نام علمی *Bellis perennis* متعلق به این خانواده گیاهی است. پژوهش‌های انجام شده نشان داده است که خانواده آفتابگردان در گیاه‌پالایی فلزات سنگین سرب، کادمیوم، اورانیوم و کروم نقش داشته‌اند (۴۶). در پژوهشی که روی جذب فلز سنگین منگنز توسط گیاه مینای چمنی صورت گرفته مشاهده شد که این گیاه توانایی جذب فلز سنگین منگنز تا حد ۴۰۰ ppm را دارد (۴۳). در پژوهشی دیگر که روی گیاه مینای چمنی در چندین منطقه شهری آلوده به فلز سنگین انجام شد، نتایج نشان داد که این گیاه توانایی زیادی در جذب فلزات سنگین سرب، روی، مس و کادمیوم دارد (۴۰). بر این اساس و از آنجا که گیاه زینتی مینا چمنی توانایی مطلوبی در زمینه پالایش خاک از فلزات سنگین از جمله سرب دارد، این پژوهش با هدف بررسی توانایی تغییرات رشد و واکنش‌های فیزیولوژیک این گیاه در شرایط تنش ناشی از فلز سرب انجام شد. بررسی اثر فلزات سنگین بر گیاهان برای شناسایی گیاهان مقاوم و استفاده از آنها در فناوری پاک‌سازی خاک‌های آلوده ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین ضمن بررسی اثر غلظت‌های متفاوت فلز سرب بر شاخص‌های رشد در گیاه زینتی مینا چمنی، تجمع عناصر سنگین یاد شده در گیاه، از حیث بیش‌انباشتگری نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۸ در گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد. بذر مینا چمنی با قوه نامیه ۹۹ درصد و با خلوص ۹۸ درصد از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. به‌منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد

وابسته به شبکه‌ای از مکانیسم‌های فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط به هم است.

فلزات سنگین از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های محیط‌زیست هستند. انتخاب روش مناسب برای پالایش خاک و رسوبات به ویژگی‌های آلاینده مکان آلوده، غلظت آلاینده و حد مجاز آن در خاک وابسته است (۳۲). پالایش گیاهی روشی پایدار، نوین و طبیعی است که نیازی به عملیات خاک‌برداری و خاک‌ریزی ندارد (۱۴). گیاهانی مناسب گیاه‌پالایی هستند که بتوانند مقدار زیادی از عنصری خاص را جذب کنند، ترکیبات سمی را به ترکیبات کم‌خطر تبدیل کنند و یا با آزادسازی آلاینده به اتمسفر از سمیت آن در خاک و آب بکاهند. ریشه گیاهان به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم موجب کاهش و یا افزایش فراهمی مواد در خاک می‌شود. گیاهان با آزاد ساختن ترشحات ریشه و افزایش تدریجی کربن آلی در خاک سبب تغییر در ترکیب مواد آلی در خاک و تغییر در ترکیب مواد آلیدر محیط ریزوسفر می‌شوند. گیاهان با آزادسازی پروتون و اسیدی کردن ریزوسفر و یا ترشح اسیدهای موثرنیک، آونیک و سایر کلات‌های آلی موجب افزایش فراهمی فلزات در خاک می‌شوند. ترشحات ریشه سبب تجزیه آلاینده‌های آلی و کاهش سمیت آنها می‌شود. گیاه آلاینده‌های فلزی را به اشکال غیرمحلول (سولفاتی، کربناتی و فسفاتی) در واکوئل، آپوپلاست و سیتوپلاسم خود رسوب می‌دهد. همچنین آپوپلاست با داشتن توانایی تبادل کاتیونی زیاد، کاتیون‌های فلزی را جذب و نگهداری می‌کند (۳۲ و ۱۴).

سرب (Pb) کم‌تحرک‌ترین عنصر سنگین در خاک محسوب می‌شود. این عنصر از منابع مختلفی وارد چرخه حیات شده و باعث آلودگی محیط زیست و ایجاد اختلال در زندگی جانداران می‌شود (۲۱). آلودگی سرب در محیط‌زیست باعث آثار مختلفی مانند جلوگیری از جوانه‌زنی بذور، اختلال در تقسیم میتوز، بروز کلروز در برگ، جلوگیری از رشد جوانه و ریشه، کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش سنتز DNA، برهم زدن تعادل آب، تغییر در نفوذپذیری غشا و اختلال در فعالیت آنزیم‌ها می‌شود

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used in this study.

Saturation percentage (%w/w)	EC (dS/m)	pH	CaCO ₃ (%TNV)	OM %	Total nitrogen (%)	K (ppm)	P (ppm)	Pb (mg/kg)	Sand %	Silt %	Clay %	Texture
34.95	0.82	8.4	25	0.8	0.12	9.399	9.1	34.9	36	44	20	Loam

Texture: بافت، Clay: رس، Silt: سیلت، Pb: سرب، Sand: شن، P: فسفر قابل جذب، K: پتاسیم قابل جذب، Total nitrogen: نیتروژن کل، OM: ماده آلی، CaCO₃: کربنات کلسیم، pH: واکنش خاک، Saturation percentage: درصد اشباع خاک، Loam: لوم.

روزهای اول، دوم، ... و بیست ششم و N تعداد کل بذور موجود در هر گلدان (۲۰ عدد بذر) است (۴۹):

$$GI = (26 \times n_1 + 25 \times n_2 + \dots + 1 \times n_{26}) / (26 \times N) \quad (2)$$

سرعت جوانه‌زنی روزانه^۳

سرعت جوانه‌زنی روزانه (DGS) که عکس میانگین جوانه‌زنی روزانه (MDG) است با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۲۲):

$$DGS = 1/MDG \quad (3)$$

$$MDG = FGP/D$$

FGP: درصد جوانه زنی نهایی

D: تعداد روز تا رسیدن به حداکثر جوانه زنی نهایی

اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی گیاه مینا چمنی

پس از طی دوره رشد گیاه و در زمان برداشت، وضعیت مورفولوژیک گیاه برای اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی ارتفاع اندام هوایی تعیین شد.

اندازه‌گیری سرعت رشد نسبی^۴

سرعت رشد نسبی (RGR) از سرعت افزایش ماده خشک در واحد زمان و واحد وزن خشک اولیه گیاه به دست می‌آید. این پارامتر در واقع تغییرات وزن خشک اولیه در واحد زمان را نشان می‌دهد. با استفاده از RGR می‌توان گیاهان مختلف را با هم مقایسه کرد و بیان کرد که هر گرم وزن خشک از هر گیاه در واحد زمان چقدر افزایش وزن نشان می‌دهد و برحسب گرم

آزمایش، نمونه‌برداری از لایه‌های مختلف پروفیل خاک انجام شد (جدول ۱). برای آلوده‌سازی خاک، فلز سرب در شش میزان (صفر، ۳۷۵، ۷۵۰، ۱۳۵۰، ۱۸۵۰، ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به نمونه‌های خاک افزوده شد. مقدار مشخصی از نیترات سرب به ازای هر سطح آلاینده و برای مجموع ۵ تکرار وزن شده، و سپس به صورت محلول در آب مقطر بر روی سطح خاک پاشیده شد. پس از اتمام دوره آلوده کردن خاک، بذر مینا چمنی به تعداد ۲۰ عدد در هر یک از گلدان‌ها کشت شدند. پس از کاشت بذور، آبیاری گلدان‌ها صورت گرفت و از روز ششم به بعد اقدام به شمارش تعداد بذور جوانه زده در هر تیمار شد.

محاسبه درصد جوانه‌زنی بذر^۱

درصد جوانه‌زنی بذر از مجموع نسبت تعداد کل بذرهای جوانه‌زده به تعداد روزهای پس از کاشت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۴۵):

$$GP = \frac{\sum n_i}{N} \times 100 \quad (1)$$

که در آن GP درصد جوانه‌زنی، N تعداد کل بذرها و n_i بذر جوانه‌زده در روز آخر شمارش است.

شاخص جوانه‌زنی^۲

شاخص جوانه‌زنی (GI) با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد. در این رابطه n_1, n_2, \dots, n_{26} به ترتیب تعداد بذور جوانه‌زده در

3. Daily germination speed
4. Relative growth rate

1. Germination percentage
2. Germination index

$V =$ حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)
 $A =$ جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر
 $W =$ وزن تازه نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ابی (۲) استفاده شد. فعالیت آنزیم با استفاده از قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی محاسبه شد. فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد:

= فعالیت میزان CAT

$$(9) \quad \frac{(\text{جذب ابتدایی} - \text{جذب انتهایی}) \times 2000}{\text{mg protein}}$$

آسکوربات پروکسیداز (APX)

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش ناکانو انجام شد. فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب به نسبت میلی گرم پروتئین عصاره بیان شد. تعیین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز با استفاده از رابطه زیر انجام شد (۲۸):

= فعالیت میزان APX

$$(10) \quad \frac{20 \times (\text{جذب ابتدایی} - \text{جذب انتهایی})}{\text{mg protein} \times 2.8}$$

اندازه‌گیری پرولین

نمونه برداری و اندازه‌گیری میزان پرولین برگ و پرولین ریشه به روش بیتس انجام شده است (۶).

محاسبه شاخص مقاومت گیاه

ویژگی شاخص تحمل یا مقاومت به صورت زیر محاسبه شد (۱۲):

$$(11) \quad TI = M_{DHM} / M_{Conl} \times 100$$

که در آن TI: شاخص تحمل گیاه در برابر سمیت فلز سنگین، M_{DHM} : میانگین وزن خشک در حضور بیشترین سطح فلز سنگین و M_{Conl} : میانگین وزن خشک در غیاب فلز (شاهد) است.

بر گرم در روز (g/g/day) بیان می‌شود (۳۱):

$$(4) \quad RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

در این رابطه RGR سرعت رشد نسبی، W_2 وزن خشک در زمان نمونه‌برداری دوم، W_1 وزن خشک در زمان نمونه‌برداری اول، t_2 زمان نمونه‌برداری دوم و t_1 زمان نمونه‌برداری اول است.

اندازه‌گیری غلظت سرب کل در اندام گیاهی

اندازه‌گیری غلظت سرب خاک با استفاده از هضم نمونه توسط اسید نیتریک و آغاز واکنش با آب اکسیژنه انجام شد. غلظت سرب نمونه‌ها ($\text{mg kg}^{-1} \text{ soil}$) با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۴۷).

محاسبه جذب سرب در کل گیاه

اندازه‌گیری سرب توسط روش هضم تر (اکسیداسیون تر) صورت گرفت و مقدار سرب موجود در اندام‌های مختلف آن توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۱۲):

$$(5) \quad A = C \times B$$

A: مقدار کل تجمع فلزات در اندام گیاهی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گلدان)، B: غلظت فلزات در اندام گیاهی (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گلدان) و C: وزن خشک نمونه‌های گیاهی (میلی‌گرم) است.

اندازه‌گیری کلروفیل a و b

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از برگ‌هایی با نمو کامل استفاده شد. برای این منظور از روش اصلاح‌شده آرنون استفاده شد (۵). در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a و b (Chl. a و Chl. b) و کاروتنوئیدها (Carotenoids) برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه نمونه به دست آمد:

$$(6) \quad \text{Chl. a} = (19.3A_{663} - 0.86A_{645}) V / 100W$$

$$(7) \quad \text{Chl. b} = (19.3A_{645} - 3.6A_{663}) V / 100W$$

$$(8) \quad \text{Carotenoids} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b}) / 227$$

داده ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. ترسیم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

سرب در غلظت‌های مختلف روی صفات مربوط به جوانه‌زنی بذور مینای چمنی در سطح ۱ درصد اثر معنی‌دار داشت (جدول ۲).

درصد جوانه‌زنی نهایی

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول (۲)، اثر فلز سرب در سطح یک درصد بر درصد جوانه‌زنی نهایی گیاه میناچمنی معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی نهایی با اختلاف معنی‌دار نسبت به گیاهان رشد یافته تحت تنش فلز سنگین سرب در تیمار شاهد به میزان ۹۳ درصد به‌دست آمد. کم‌ترین میزان درصد جوانه‌زنی نهایی هم در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سرب به میزان ۳۳ درصد به‌دست آمد (جدول ۳). بر اساس نتایج این پژوهش با افزایش غلظت سرب در خاک درصد جوانه‌زنی (تعداد بذور جوانه‌زده) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش غلظت فلزات سنگین موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تشکیل مالون دی‌آلدید می‌شود (۹). در واقع فلزات سنگین موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود. تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها در اثر تنش‌های اکسیداتیو موجب اختلال در کارکرد غشای سلولی و از بین رفتن خاصیت نفوذپذیری انتخابی آن می‌شود که این امر افزایش نشت مواد ذخیره بذور شده و کاهش جوانه‌زنی و قدرت بذر را در پی دارد. همچنین در اثر تنش‌های اکسیداتیو فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تغییر پیدا می‌کند (۱۰). کاهش درصد جوانه‌زنی و تعداد بذر جوانه‌زده در گیاه *Helianthus annuus* در اثر تنش سرب توسط کبیر و همکاران گزارش شده است (۱۷) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت.

فاکتور تجمع زیستی^۱ و فاکتور انتقال^۲

فاکتور تجمع زیستی و فاکتور انتقال، مشخص‌کننده توانایی گیاهان برای تحمل و تجمع فلزات سنگین در اندام‌های خود بوده که این پارامترها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (۱۲):

$$\text{فاکتور انتقال فلز در گیاه} = \frac{\text{غلظت فلز در ریشه} / \text{غلظت فلز در شاخساره}}{\text{غلظت فلز در خاک} / \text{غلظت فلز در اندام‌های هوایی}} \quad (12)$$

$$\text{فاکتور تجمع زیستی} = \frac{\text{غلظت فلز در گیاه}}{\text{غلظت فلز در خاک} / \text{غلظت فلز در اندام‌های هوایی}} \quad (13)$$

فاکتور انباشتگری^۳

برای محاسبه فاکتور انباشتگری (AF) از رابطه زیر استفاده شد که بیانگر نسبت عناصر موجود در گیاه تیمار شده (AP) به عناصر موجود در گیاه شاهد (AS) است (۱۲):

$$AF = AP / AS \quad (14)$$

پتانسیل استخراج سبز^۴

این پتانسیل عبارت است از مقدار سرب تجمع یافته در شاخساره در وزن خشک تولیدشده در یک هکتار در طول یک فصل رشد که از طریق فرمول زیر محاسبه می‌شود (۸):

$$\text{Phytoextraction potential} = \frac{\text{SMetal C} \times \text{SY}}{\text{Metal C}} \quad (15)$$

در این فرمول SMetal C: غلظت فلز سنگین سرب در شاخساره برحسب گرم بر کیلوگرم و SY: مقدار شاخساره تولیدشده در یک هکتار در طول یک فصل رشد برحسب کیلوگرم در هکتار است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین

1. Bioaccumulation factor
2. Translocation factor
3. Accumulation factor
4. Phytoextraction potential

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده مربوط به جوانه‌زنی بذور مینا چمنی تحت تأثیر تیمار سرب.

Table 2. Results of analysis of variance of evaluated traits related to germination of *Bellis perennis* seeds as affected by lead treatment.

Mean Square میانگین مربعات					
Germination index شاخص جوانه‌زنی	Daily germination speed سرعت جوانه‌زنی روزانه	Time for germination زمان جوانه‌زنی	Germination % درصد جوانه‌زنی	Degree of freedom درجه آزادی	Source of variation منبع تغییر
518.9**	259**	130.6**	2367.33**	5	Treatment تیمار
341.37	3	1.26	56.25	24	Error خطا
11.51	30.2	6.75	12.3	-	CV (%) ضریب تغییرات

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ** Significant at the 1% level of probability

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده مربوط به جوانه‌زنی بذور مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف سطوح سرب.

Table 3. Mean comparisons of germination traits of *Bellis perennis* seeds as affected by lead levels.

Germination index (day) شاخص جوانه‌زنی	Daily germination speed (seed day ⁻¹) سرعت جوانه‌زنی روزانه	Time for germination (day) زمان جوانه‌زنی	Germination % درصد جوانه‌زنی	Pb content (mg kg ⁻¹) مقدار سرب
310.15 ^a	28 ^b	10.32 ^e	93 ^a	0
242.15 ^b	33 ^b	12.08 ^d	79 ^b	375
173.23 ^c	39 ^b	14.96 ^c	66 ^c	750
119.69 ^d	47 ^b	18.08 ^b	56 ^d	1350
72.31 ^e	55 ^b	21.89 ^a	47 ^d	1850
45.54 ^f	91 ^a	22.63 ^a	33 ^e	2450

حروف متفاوت در هر ستون نمایانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

Means in each column followed by different letters are significantly different at the 1% level of probability.

شاخص جوانه‌زنی

اختلالات متابولیکی در اکثر گونه‌های گیاهی می‌شوند (۱۰). در این پژوهش هم فلزات سنگین در گیاه مینای چمنی سبب کاهش شاخص جوانه‌زنی شد. همسو با نتایج ما، عبدلی و همکاران (۳) نشان دادند که شاخص‌های جوانه‌زنی با افزایش غلظت فلزات سنگین کاهش می‌یابد. آثار فلزات سنگین با خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه از بذر به خاطر تماس مستقیم با این اندام‌ها به‌ویژه با ریشه‌چه بیشتر هم می‌شود.

سرعت جوانه‌زنی

بر اساس نتایج به‌دست آمده در جدول (۲) اثر فلز سرب در سطح یک درصد بر سرعت جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی گیاه مینای چمنی معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس

بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول (۲) اثر سرب در سطح احتمال یک درصد بر شاخص جوانه‌زنی معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بیش‌ترین شاخص جوانه‌زنی به مقدار ۳۱۰/۱۵ در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان به مقدار ۴۵/۵۴ در تیمار ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب خاک به‌دست آمد (جدول ۳). با افزایش غلظت سرب در خاک شاخص جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یکی از حساس‌ترین مراحل رشد گیاه است؛ اگر گیاه در این مرحله بتواند تنش‌های گوناگون ناشی از عناصر سنگین را تحمل کند، مراحل بعدی رشد را نیز می‌تواند پشت سر بگذارد. فلزات سنگین باعث جلوگیری از جوانه‌زنی و رشد بذر و

میانگین در جدول (۵) بیشترین وزن خشک ریشه هم در تیمار شاهد به مقدار ۲/۱۳ گرم در گلدان به دست آمد و کمترین مقدار به میزان ۰/۰۳ گرم در گلدان، تیمار ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد و بین سطوح مختلف سرب اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج بررسی وزن خشک ریشه و شاخساره مینای چمنی در سطوح مختلف سرب نشان داد که با افزایش غلظت فلز سنگین در خاک، میزان این صفات در گیاه مینای چمنی کاهش یافت و افزایش غلظت فلز در خاک تأثیر منفی بر این صفات داشت. تغییرات مشاهده شده در صفات مورفولوژیک گیاه ممکن است از علائم آثار سمی فلزات سنگین بر غشای پلاسمایی و غلظت فلزات سنگین باشد که می‌تواند کاهش عملکرد را در این شرایط توجیه کند. همچنین تغییر کلروپلاست در گیاهان رشدیافته در شرایط تنش فلزات سنگین نیز مشاهده شده است (۳۰). فلز سنگین سرب به علت ممانعت بر فتوسنتز II و یا با ممانعت بیشتر در سطح پلاستوکینون سبب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود. سرب همچنین با غیرفعال کردن آنزیم‌های غشایی، سبب آسیب غشا و با ممانعت از فعالیت ATPase، بر یکپارچگی غشا تأثیر می‌گذارد (۱). اثر سرب بر کاهش شاخص‌های رشدی توسط العبودی و همکاران (۳) و توگیر و همکاران (۴۵) گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر در مورد گیاه مینای چمنی هم‌خوانی داشت.

ارتفاع گیاه

بر اساس نتایج به دست آمده در جدول (۴) اثر فلز سرب در سطح یک درصد بر ارتفاع گیاه مینای چمنی معنی‌دار بود (۰/۰۱ $P <$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین ارتفاع گیاه با اختلاف معنی‌دار نسبت به گیاهان رشدیافته تحت تنش فلز سنگین سرب در تیمار شاهد به میزان ۱۲۲/۵۶ میلی‌متر به دست آمد. کمترین میزان ارتفاع هم در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به میزان ۸۸/۸۶ میلی‌متر به دست آمد (جدول ۵). با افزایش غلظت فلز سنگین سرب همانند وزن خشک، ارتفاع

نتایج مقایسه میانگین، بیشترین سرعت جوانه‌زنی با اختلاف معنی‌داری نسبت به گیاهان رشد یافته تحت تنش فلز سنگین سرب در تیمار شاهد به میزان ۱/۹۰ به دست آمد. کمترین میزان سرعت جوانه‌زنی هم در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب به میزان ۰/۲۹ به دست آمد ولی با غلظت سرب به میزان ۱۸۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). بیشترین ضریب سرعت جوانه‌زنی به مقدار ۰/۰۹۷ در تیمار شاهد به دست آمد و کمترین میزان هم مربوط به غلظت سرب به میزان ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به مقدار ۰/۰۴۴ به دست آمد ولی با غلظت سرب به میزان ۱۸۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳). نتایج حاصل از این پژوهش مؤید این موضوع است که با افزایش غلظت سرب در خاک، سرعت جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی به طور معنی‌داری کاهش یافت. فلزات سنگین اثر مهارکنندگی خود را بر جوانه‌زنی بذرها به روش‌های گوناگون اعمال می‌کنند. برخی فلزات سنگین با مهار هیدرولیز نشاسته آندوسپرم، سرعت جوانه‌زنی و رشد اولیه بذور کاهش می‌دهند و برخی دیگر با آسیب رساندن به رویان از جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌کنند (۲۶). نتایج پژوهش حاضر با نتایج سفکسی بوسبیخ و همکاران (۳۸) در رابطه با تأثیر فلز سرب بر کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور گیاهان هم‌خوانی داشت.

شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه مینای چمنی

وزن خشک ریشه و شاخساره: بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول (۴) اثر فلز سنگین سرب بر وزن خشک ریشه و شاخساره مینای چمنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (۰/۰۱ $P <$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) بیشترین وزن خشک شاخساره به مقدار ۱/۳۵ گرم در گلدان تیمار شاهد به دست آمد که به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان رشدیافته تحت سطوح مختلف سرب بیش‌تر بود. کمترین مقدار وزن خشک شاخساره هم به مقدار شش صدم گرم در گلدان، سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد. بر اساس نتایج مقایسه

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیک ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف تیمار سرب.

Table 4. Results of analysis of variance of morphophysiological traits of *Bellis perennis* as affected by lead treatment.

Mean Square					
میانگین مربعات					
RGR	Height	Root DW	Shoot DW	Degree of freedom	Source of variation
سرعت رشد نسبی	ارتفاع	وزن خشک ریشه	وزن خشک شاخساره	درجه آزادی	منبع تغییر
0.0000**	482.92**	1.71**	0.647**	5	Treatment تیمار
0.0000	9.51	0.009	0.001	12	Error خطا
6.07	2.95	12.58	0.647	-	CV (%) ضریب تغییرات

** Significant at the 1% level of probability *** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۵. مقایسه میانگین صفات مورفوفیزیولوژیک ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف سطوح سرب.

Table 5. Mean comparisons of morphophysiological traits of *Bellis perennis* as affected by lead levels.

RGS (g/g/day)	Height (mm)	Root DW (g per pot)	Shoot DW (g per pot)	Pb content (mg kg ⁻¹)
سرعت رشد نسبی	ارتفاع	وزن خشک ریشه	وزن خشک شاخساره	مقدار سرب
0.027 ^a	122.56 ^a	2.13 ^a	1.35 ^a	0
0.024 ^b	115.98 ^b	1.04 ^b	1.12 ^b	375
0.022 ^b	103.46 ^c	0.80 ^c	0.92 ^c	750
0.017 ^{dc}	99.15 ^{cd}	0.48 ^d	0.87 ^c	1350
0.018 ^c	95.97 ^d	0.22 ^e	0.48 ^d	1850
0.015 ^d	88.86 ^e	0.03 ^f	0.06 ^e	2450

حروف متفاوت در هر ستون نمایانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد است.

Means in each column followed by different letters are significantly different at the 1% level of probability.

است اثر سطوح مختلف فلز سنگین سرب بر سرعت رشد نسبی گیاه مینای چمنی معنی دار بود ($P < 0.01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین در جدول (۵) بیشترین سرعت رشد نسبی به مقدار ۰/۰۲۷ گرم در گرم در روز در تیمار شاهد به دست آمد. کمترین میزان این شاخص هم در سطح ۲۴۵۰ میلی گرم سرب بر کیلوگرم خاک به مقدار ۰/۰۱۵ گرم در گرم در روز به دست آمد. سرعت رشد نسبی گیاه که افزایش وزن خشک گیاه در ازای هر واحد وزنی گیاه است، معمولاً همبستگی مثبت زیادی با تولید زیتوده در گونه‌های مختلف گیاهی دارد (۲۷). در این پژوهش در گیاه مینای چمنی با افزایش غلظت سرب، میزان سرعت رشد نسبی کاهش یافت. کاهش میزان سرعت رشد نسبی می‌تواند به علت کاهش وزن اندام هوایی تحت تأثیر تنش سرب باشد که با کاهش وزن اندام

گیاه مینای چمنی کاهش یافت. که دلیل آن می‌تواند به تأثیر مستقیم فلزات بر متابولیسم سلولی اندام‌هوایی برگردد که ممکن است منجر به کاهش ارتفاع بوته و سایر صفات رشدی در گیاهان تحت تأثیر تنش فلزات سنگین شود. همچنین اوزونیدو (۲۹) اثر فلزات سنگین در ممانعت از طویل شدن ساقه و ریشه را عمدتاً به تقسیم غیرمعمول سلول‌ها، ممانعت از فرآیندهای فتوسنتزی و تنفس در ساقه و ستنز پروتئین در ریشه نسبت داده است. نتایج این پژوهش با نتایج ژل جاسکوف و همکاران (۵۴) روی گیاه *Alternanthera bettzickiana* که نشان دادند فلزات سنگین سبب کاهش ارتفاع گیاهان می‌گردد هم‌خوانی داشت.

سرعت رشد نسبی (RGR)

بر اساس نتایج مقایسه میانگین که در جدول (۴) نشان داده شده

جدول ۶. نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف تیمار سرب.

Table 6. Results of analysis of variance of evaluated biochemical traits of *Bellis perennis* as affected by lead treatment.

Mean Square										Source of variation
میانگین مربعات										
Pb in plant	Shoot Pb	Root Pb	APX	CAT	Root proline content	Leaf proline content	Carotenoids	Chl. a & b	Degree of freedom	
سرب در کل گیاه	سرب در شاخساره	سرب در ریشه	آسکوربات پروکسیداز	کاتالاز	مقدار پرولین ریشه	مقدار پرولین برگ	کاروتنوئیدها	مجموع کلروفیلها	درجه آزادی	منبع تغییر
21144.4**	984.73**	1686**	70.38**	39.65**	153.22**	8.21**	0.230 ^{ns}	6.34**	5	Treatment
325.19	8.30	181.90	0.134	0.089	0.554	0.204	0.117	0.161	12	Error
10.29	3.14	1.136	5.46	4.33	4.32	12.57	19.25	4.88	-	CV (%)

** و ns: به ترتیب معنی دار و عدم معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at the 1% level of probability APX: Ascorbat Proxidase, CAT: Catalase, Chl.: Chlorophyll

محتوی کلروفیل ممکن است در نتیجه کاهش سنتز کلروفیل، با افزایش احتمالی آنزیم کلروفیلاز، اختلال در غشای کلروپلاست و غیرفعال سازی انتقال الکترون فتوسیستم II باشد. همچنین فلزات سنگین، تعادل تغذیه ای جوانه‌ها را از طریق جذب رقابتی در مکان‌های جذبی تغییر می‌دهند که منجر به کاهش رشد گیاه می‌گردد. منیزیم از عناصر کلیدی در بیوسنتز کلروفیل است که فلزات سنگین مانند سرب در جذب این عنصر مهم اختلال ایجاد می‌کند. همچنین فلزات سنگین ممکن است باعث اختلال در سنتز زیستی کلروفیل شوند (۴۴). علاوه بر این گزارش‌های ریبریو دسوزا (۳۳) و جورج و همکاران (۱۶) نیز اثبات کننده نتایج پژوهش حاضر در مورد اثر فلزات سنگین بر کاهش کلروفیل *a* و *b* است. بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر سطوح مختلف سرب بر میزان کارتنوئید گیاه مینای چمنی معنی دار نبود ($P < 0/01$). بیشترین میزان کارتنوئید به مقدار ۲/۱۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۷). فلزات سنگین به عنوان عناصر سمی در سیتوپلاسم، می‌تواند مانع فعالیت اندامک‌های درون سلولی شوند و با اختلال در سنتز کارتنوئیدها، سبب عدم محافظت مناسب از سیستم فتوسنتزی می‌شوند (۴۴).

پرولین برگ و ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس در جدول (۶) اثر سطوح

هوایی، سرعت رشد نسبی هم کاهش می‌یابد. ایرانبخش و همکاران با پژوهشی روی گیاه سویا گزارش دادند که با افزایش سطوح سرب، میزان سرعت رشد نسبی به طور معنی داری کاهش می‌یابد (۱۳) که با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر همخوانی دارد.

مجموع کلروفیل *a* و *b* و کارتنوئید

اثر سطوح مختلف آلودگی سرب بر مجموع میزان کلروفیل *b* و *a* گیاه مینای چمنی (جدول ۶) در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان مجموع کلروفیل *a* و *b* در تیمار شاهد و سطح ۳۷۵ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک به ترتیب به میزان ۹/۹۸ و ۹/۴۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه به دست آمد و بین این دو اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۷). کمترین میزان این صفت (۵/۹۹ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) در غلظت ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد. در این پژوهش با افزایش غلظت فلز سنگین سرب، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ گیاه مینای چمنی کاهش پیدا کرد. نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که سنتز کلروفیل در گیاهان رشد یافته در خاک‌های آلوده می‌تواند به طور معنی داری کاهش یابد (۹). تجمع فلزات سنگین در واکوئل می‌تواند یکی از راه‌های کاهش خسارت به غشا و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان باشد (۱۱). کاهش

جدول ۷. مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر سطوح سرب.

Table 7. Mean comparisons of evaluated traits related to biochemistry of *Bellis perennis* as affected by lead treatment.

Pb in plant (mg per pot)	Shoot Pb (mg kg ⁻¹ DW)	Root Pb (mg kg ⁻¹ DW)	APX (U mg ⁻¹ protein)	CAT (U mg ⁻¹ protein)	Root proline (mg g ⁻¹ FW)	Leaf proline (mg g ⁻¹ FW)	Carotenoids (mg g ⁻¹ FW)	Chl. a + b (mg g ⁻¹ FW)	Pb (mg kg ⁻¹)
سرب در سرسب در کل گیاه	سرب در شاخساره	سرب در ریشه	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	مقدار پرولین ریشه	مقدار پرولین برگ	کاروتنوئیدها	مجموع کلروفیلها	مقدار سرب
22.83 ^c	2.22 ^f	9.40 ^f	1.74 ^f	2.22 ^f	7.85 ^f	1.54 ^d	2.12 ^a	9.98 ^a	0
173.25 ^{dc}	56.48 ^e	112.15 ^c	2.94 ^e	3.68 ^e	10.03 ^e	1.96 ^d	1.94 ^a	9.43 ^a	375
261.50 ^a	91.19 ^d	223.67 ^d	3.99 ^d	5.90 ^d	16.37 ^d	3.21 ^c	1.84 ^a	8.68 ^b	750
204.90 ^{bc}	102.97 ^c	324 ^c	7.08 ^c	8.29 ^c	20.24 ^c	4.29 ^b	1.75 ^a	7.84 ^c	1350
155.93 ^d	133.16 ^b	435.78 ^b	10.09 ^b	9.40 ^b	23.40 ^b	4.78 ^b	1.65 ^a	7.40 ^c	1850
32.42 ^e	164.64 ^a	616.23 ^a	14.42 ^a	11.87 ^a	25.46 ^a	5.77 ^a	1.31 ^a	5.99 ^d	2450

حروف متفاوت در هر ستون نمایانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد است. APX: Ascorbat Proxidase, CAT: Catalase, Chl.: Chlorophyll.

Means in each column followed by different letters are significantly different at the 1% level of probability.

افزایش می یابد (۴). برخی پژوهشگران افزایش پرولین در اثر تنش فلزات سمی را به عنوان یک شاخص بیولوژیک عنوان کرده اند (۲۰). در این آزمایش مقدار پرولین برگ و ریشه گیاه مینای چمنی با افزایش غلظت فلز سرب در خاک افزایش یافت. افزایش مقدار پرولین در برگ و ریشه در اثر تنش فلزات سنگین به احتمال زیاد به عنوان مسیری برای حفظ انرژی است که از طریق بازدارندگی رشد ریشه توسط فعالیت آنزیم پراکسیداز موجود در دیواره های سلولی صورت می گیرد.

آنزیم های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) نشان داد که اثر سرب بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) بین سطوح مختلف سرب با یکدیگر و با تیمار شاهد از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز اختلاف معنی دار وجود داشت له طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۱/۸۷ واحد بر میلی گرم پروتئین) در سطح ۲۴۵۰ میلی گرم سرب در کیلوگرم خاک به دست آمد و کمترین میزان (۲/۲۲ واحد بر میلی گرم پروتئین) در تیمار شاهد بود. آنزیم کاتالاز، هیدروژن پراکسید را هم به عنوان دهنده هیدروژن و هم به عنوان سوستر در تجزیه کاتالیتیکی هیدروژن پراکسید به فرم اکسیژن و آب استفاده می کند (۵۱). کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدان مهم در مکانیسم دفاعی گیاهان است که در کنترل گونه های فعال

مختلف آلودگی فلز سنگین سرب بر پرولین برگ و ریشه گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (۰/۰۱) $P < 0/01$. بر اساس نتایج مقایسه میانگین در جدول (۷) پرولین برگ به مقدار ۵/۷۷ میلی گرم در وزن تازه در سطح ۲۴۵۰ میلی گرم سرب در کیلوگرم خاک به دست آمد و کمترین میزان پرولین برگ هم در گیاهان شاهد و سطح ۳۷۵ میلی گرم در کیلوگرم به ترتیب به میزان ۱/۵۴ و ۱/۹۶ میلی گرم در وزن تازه به دست آمد که بین این دو اختلاف معنی داری وجود نداشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین پرولین ریشه مشابه پرولین برگ در بیشترین سطح به کار رفته سرب یعنی سطح ۲۴۵۰ میلی گرم در کیلوگرم خاک به دست آمد. کمترین میزان پرولین ریشه هم در تیمار شاهد به مقدار ۷/۸۵ میلی گرم در وزن تازه به دست آمد. پژوهشگران کارکردهای زیادی برای پرولین عنوان کرده اند که از جمله تنظیم اسمزی، حفاظت ماکرومولکول های سازنده دیواره سلولی از صدمه، ذخیره نیتروژن و مهار رادیکال های آزاد است. این ویژگی های پرولین باعث کاهش تأثیر تنش می شود (۱۹). پرولین در محدوده وسیعی از گونه های گیاهان تحت تنش های مختلفی همچون خشکی، شوری، دماهای زیاد و نور زیاد تجمع می یابد (۲۳). گزارش شده است که مقدار پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس است که سبب می شود این گیاهان رشد بهتری داشته باشند، این موضوع در اثر تعدیل پتانسیل اسمزی است که در نتیجه آن فشار آماس سلول و پتانسیل آب برگ

مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین میزان سرب در ریشه می‌شود. در این آزمایش با افزایش غلظت سرب در خاک میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه مینای چمنی برای جاروب کردن اکسیژن‌های آزاد و کاهش آسیب‌دیدگی گیاه ناشی از تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر تنش فلز سنگین سرب توسط جیانگ و همکاران (۱۵) روی گیاه *Luffa cylindrica* گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) نشان داد اثر سطوح سرب بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱۴/۴۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد و کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱/۷۴) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مانند آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد بود. آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در تعدیل میزان ترکیبات ROS تولید شده طی تنش در سلول دارد. این آنزیم از آسکوربات به عنوان عامل احیاکننده استفاده کرده و هیدروژن پراکسید را از طریق چرخه آسکوربات-گلوتاتیون تجزیه می‌کند. در این چرخه با فعالیت آنزیم APX، آسکوربات به مونوهدروآسکوربات اکسید می‌شود و برای ادامه چرخه تولید دوباره آسکوربات لازم است. میزان فعالیت این آنزیم در گیاه مینای چمنی مشابه آنزیم کاتالاز با افزایش غلظت فلز سنگین سرب افزایش یافت. همسو با این نتایج، ونگ و همکاران (۵۰) گزارش دادند که با افزایش غلظت سرب میزان فعالیت APX به‌طور معنی‌داری در گیاه *Vallisneria natans* افزایش می‌یابد.

میزان سرب در ریشه، شاخساره و کل گیاه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶)، اثر سطوح مختلف آلودگی سرب بر میزان سرب در ریشه گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس

مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین میزان سرب در ریشه گیاهان شاهد به مقدار ۹/۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ریشه به دست آمد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶)، اثر فلز سنگین سرب در سطوح مختلف بر میزان سرب در شاخساره گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین میزان سرب در شاخساره (۱۶۴/۶۴) میلی‌گرم در کیلوگرم گیاهان رشد یافته تحت سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آمد. کمترین میزان سرب شاخساره (۲/۲۲) میلی‌گرم در کیلوگرم در گیاهان شاهد که تحت تأثیر تنش سرب قرار نگرفته بودند به دست آمد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر سرب بر میزان سرب در کل گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین میزان سرب در کل گیاه (۲۶۱/۵۰) میلی‌گرم در کیلوگرم در سطح سرب ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد. کمترین میزان سرب در کل گیاه (۲۲/۸۳) میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار شاهد به دست آمد. نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت سرب در ریشه گیاه مینای چمنی بیش‌تر از اندام هوایی آن است و هم در ریشه و هم در اندام هوایی و کل گیاه با افزایش غلظت سرب در خاک میزان آن در این اندام‌ها افزایش می‌یابد. میزان انباشت سرب در گیاه متأثر از غلظت آن در خاک است (۵۲)، اما غالباً میزان انباشت سرب در ریشه زیاده‌تر از ساقه و برگ‌ها است. به دلیل مکانیسم‌های محافظتی گیاه که از انتقال سرب به بخش‌های بالایی جلوگیری می‌کند، میزان تجمع این فلز در بخش‌های گیاهی از الگوی زیر تبعیت می‌کند: ریشه < ساقه < برگ < میوه < دانه (۳۷). وجود بیش‌تر فلز سنگین در ریشه، تأثیر سمی بر ریشه و جلوگیری از رشد آن دارد که در اثر کاهش رشد ریشه، میزان جذب آب و یون‌های معدنی کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش رشد عمومی

جدول ۸. نتایج تجزیه واریانس صفات گیاه‌پالایی ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف تیمار سرب.

Table 8. Results of analysis of variance of evaluated traits related to phytoremediation of *Bellis perennis* as affected by lead treatment.

		Mean Square میانگین مربعات			Degree of freedom درجه آزادی	Source of variation منبع تغییر
Bioaccumulation factor ضریب تجمع زیستی اندام‌های هوایی	Accumulation factor فاکتور انباشتگری	Phytoextraction potential پتانسیل استخراج سبز	Translocation factor فاکتور انتقال	Tolerance index شاخص تحمل		
563.55**	40.570**	3782.4**	0.078**	3790.51**	5	Treatment تیمار
0.17	0.624	13.04	0.0009	9.41	12	Error خطا
4.89	10.29	7.19	10.44	6.93	-	CV (%) ضریب تغییرات

** Significant at the 1% level of probability. **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

شاخص تحمل هم به مقدار ۴/۴۱ درصد در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سرب به‌دست آمد و با افزایش سطح فلز سنگین سرب میزان شاخص تحمل گیاه مینای چمنی کاهش یافت. شاخص تحمل در مباحث گیاه‌پالایی، یکی از عوامل مهم بررسی گیاه در بستر آلوده به فلز سنگین است (۴۷). در این پژوهش با افزایش غلظت سرب در خاک شاخص تحمل گیاه مینای چمنی کاهش یافت. بر اساس با این نتایج چن و همکاران (۷)، شاخص تحمل *Salix babylonica* به فلز مس معادل ۷۵ تا ۷۸ درصد و برای *Salix jiangensis* معادل ۸۶-۸۰ درصد بود و با افزایش غلظت مس شاخص تحمل در هر دو گونه کاهش یافت. همچنین صالحی و همکاران (۳۴) نیز، شاخص تحمل اندام هوایی *Populus alba* رشد یافته در خاک آلوده به سرب را حداقل ۸۰ درصد و شاخص تحمل ریشه را حداقل ۴۵ درصد گزارش کردند.

فاکتور انتقال

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، اثر فلز سنگین سرب بر شاخص تحمل گیاه مینای چمنی معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۹)، بیش‌ترین میزان فاکتور انتقال به مقدار

گیاهان و به تبع آن کاهش وزن شاخساره گیاه است. ژائو و همکاران (۵۳) بیان کردند که ریشه‌ها معمولاً فلز بسیار بیش‌تری نسبت به اندام هوایی تجمع می‌دهند که ممکن است به دلیل رسوب فلزات در واکنش‌ها و سلول‌های ریشه باشد که به عنوان یک مکانیسم سمیت‌زدایی در نظر گرفته می‌شود. همچنین پراسد و همکاران (۳۰) نشان دادند که سرب در ریشه‌ها بیش‌تر از اندام‌هوایی گیاهان رشد یافته در خاک آلوده به فلزات سنگین بود. دلیل کم بودن سرب در اندام هوایی را به کم تحرک بودن این فلز نیز می‌توان نسبت داد. برای نمونه مارین و همکاران به این نتیجه رسیدند که میزان سرب در ریشه اکالیپتوس به طور معنی‌داری بیش‌تر از اندام هوایی رشد یافته در خاک آلوده به سرب بود که علت آن می‌تواند تحرک و حلالیت کم سرب حتی در غلظت‌های زیاد باشد (۲۴).

شاخص تحمل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، اثر فلز سنگین سرب بر شاخص تحمل گیاه مینای چمنی معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیش‌ترین شاخص تحمل به مقدار ۱۰۰ درصد در گیاهانی به دست آمد که تحت تنش فلز سنگین سرب قرار نگرفته بودند (جدول ۹). کم‌ترین میزان

جدول ۹. مقایسه میانگین صفات گیاه‌پالایی ارزیابی شده در مینای چمنی تحت تأثیر مقادیر مختلف سطوح سرب.

Table 9. Mean comparisons of evaluated traits related to phytoremediation of *Bellis perennis* as affected by lead levels.

Bioaccumulation factor ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی	Accumulation factor فاکتور انباشتگری	Phytoextraction potential پتانسیل استخراج سبز	Tranpoatation factor فاکتور انتقال	Tolerance index شاخص تحمل	Pb (mg kg ⁻¹ soil) مقدار سرب
4.25 ^a	1.0 ^e	2.88 ^d	0.242 ^e	100 ^a	0
1.98 ^d	7.58 ^{cd}	60.68 ^b	0.503 ^a	69.38 ^b	375
2.45 ^{cd}	11.45 ^a	80.73 ^a	0.409 ^b	47.44 ^c	750
3.15 ^{bc}	8.97 ^{bc}	86.01 ^a	0.318 ^c	24.14 ^d	1350
3.27 ^b	6.83 ^d	61.10 ^b	0.305 ^c	20.23 ^d	1850
3.74 ^b	1.42 ^e	9.930 ^c	0.27 ^d	4.41 ^e	2450

حروف متفاوت در هر ستون نمایانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

Means in each column followed by different letters are significantly different at the 1% level of probability

بود. این شاخص به توانایی گیاه در جذب فلزات سنگین از خاک آلوده و تجمع آن در زیست‌توده خود اشاره می‌کند. در این آزمایش پتانسیل گیاه مینای چمنی تا غلظت ۱۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در جذب فلز سرب از خاک افزایش یافت. ولی با افزایش غلظت سرب در خاک این توانایی کاهش یافت. پتانسیل گیاهان در استخراج سبز علاوه بر گونه گیاهی به نوع فلز هم بستگی دارد. پژوهش‌های سلطانی جاوید و همکاران (۴۲) و مرادلی و همکاران (۲۷) نشان داده است که میزان پتانسیل استخراج سبز گیاهان با توجه به نوع فلز متفاوت است.

فاکتور انباشتگری

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، اثر فلز سنگین سرب بر فاکتور انباشتگری گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۹) نشان داد بیش‌ترین میزان فاکتور انباشتگری در سطح ۷۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به مقدار ۱۱/۴۵ به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار فاکتور انباشتگری هم به مقدار ۱ در تیمار شاهد به‌دست آمد. فاکتور انباشتگری نشان‌دهنده میزان غلظت فلزات سنگین در گیاه رشد یافته تحت تنش فلز سنگین نسبت به گیاه شاهد بود. در این آزمایش بیش‌ترین میزان فاکتور انباشتگری در غلظت‌های ۷۵۰ و ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک سرب در گیاه مینای چمنی بود که نشان می‌دهد در این غلظت‌ها گیاه فلز سرب بیش‌تری را از خاک جذب و انتقال داده است.

۳۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب به‌دست آمد و کم‌ترین میزان هم به مقدار ۰/۰۲۷ در سطح ۲۴۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب به‌دست آمد. فاکتور انتقال همان نسبت غلظت فلز در اندام هوایی به ریشه است و نشان‌دهنده گرایش گیاهان به جابه‌جا کردن فلزات از ریشه به ساقه است. بیش‌ترین فاکتور انتقال در کم‌ترین غلظت فلز سرب به‌دست آمد و با افزایش غلظت آن میزان فاکتور انتقال کاهش یافت. احتمال می‌رود دلیل این یافته آن باشد که در غلظت‌های کم به‌دلیل نیاز اندام هوایی به فلز سرب، میزان انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی بیش‌تر است ولی با افزایش غلظت سرب در خاک، میزان فاکتور انتقال کاهش داشت، زیرا در غلظت‌های زیادتر میزان سرب بیش از حد مجاز می‌شود و گیاه سعی می‌کند تا آن را در ریشه ذخیره کند و در غلظت‌های بسیار بیش‌تر هم سبب سمیت محیط برای ریشه و کاهش رشد گیاه می‌شود (۴۱).

پتانسیل استخراج سبز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، اثر فلز سنگین سرب بر پتانسیل استخراج سبز گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0/01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۹) بیش‌ترین میزان پتانسیل استخراج سبز در سطوح ۷۵۰ و ۱۳۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب به مقدار ۸۰/۷۳ و ۸۶/۰۱ گرم در هکتار به‌دست آمد. کم‌ترین میزان هم به مقدار ۲/۸۸ گرم در هکتار در تیمار شاهد

ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۸)، اثر فلز سنگین سرب بر ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی گیاه مینای چمنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P < 0.01$). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۹) نشان داد بیش‌ترین میزان ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی به مقدار $3/74$ در سطح 2450 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌دست آمد. کم‌ترین میزان ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی هم به مقدار $1/98$ در سطح 375 میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک به‌دست آمد. ضرب تجمعی زیستی اندام‌های هوایی از تقسیم کردن میزان غلظت فلز در اندام زیرزمینی بر غلظت فلز در اندام‌های هوایی به‌دست می‌آید. این ضرب نشان‌دهنده توانایی گیاه برای انتقال فلزات سنگین به بخش‌های هوایی گیاه است. با افزایش غلظت فلز سنگین سرب میزان ضرب تجمعی زیستی گیاه مینای چمنی افزایش یافت که نشان‌دهنده توانایی گیاه مینای چمنی در انتقال فلز سرب از ریشه به اندام‌های هوایی با توجه به بیش‌تر شدن غلظت فلز سرب در خاک است. ساسماز و همکاران (۳۵) نشان دادند که با افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک ضرب تجمعی زیستی در گیاه *Typha latifolia* افزایش می‌یابد که همسو با نتایج پژوهش حاضر بود.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که امکان جوانه‌زنی این گیاه در حضور سرب وجود دارد. اما افزایش غلظت سرب سبب اختلال در درصد جوانه‌زنی و سرعت رشد می‌شود، همچنین سرب منجر به کاهش وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی گیاه مینای چمنی می‌شود. غلظت‌های بیش‌تر سرب، اثر منفی بیشتری نسبت به غلظت‌های کم‌تر در تمامی صفات مورد بررسی نشان دادند. با توجه به اینکه در غلظت‌های بیش‌تر تیمار سرب، میزان فعالیت آنزیم‌های اکسیدانت و پرولین در گیاه مینای چمنی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که در مقادیر بیش‌تر فلز سنگین سرب توان بهتری برای مقاومت به سرب در این گیاه وجود دارد. در مجموع، با توجه به اینکه در ریشه این گیاه مقدار قابل توجه سرب ذخیره می‌شود، می‌توان این‌طور بیان کرد که با عمل تثبیت ریشه این گیاه می‌تواند به جذب و پالایش سرب از محیط‌های آلوده کمک کند و در گروه گیاهان مطلوب برای پروژه‌های گیاه‌پالایی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه تربیت مدرس بدلیل تأمین امکانات اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Adam, T., Nilesh, R., Sharma, C., Sahi, S.V., Singh, S.R., Sajwan, K.S., 2006. Effects of lead and chelators on growth. Photosynthetic activity and Pb uptake in profile for lead. US Department of Health and Human Services. Public Health Services. Atlanta GA.
- Aebi, H.E., 1983. Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), Methods of Enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, Germany, pp. 273–286.
- Alaboudi, K., Ahmed, B., Brodie, G., 2018. Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. *Annals of Agricultural Sciences* 63(1): 123–127.
- Alia, G., Srivastava, P.S., Iobal, M., 2001. Responses of *bacopa moniera* cultures to cadmium toxicity. *Bulletin Environment and Contaminant Toxicology* 66: 342–349.
- Aron, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112–121.
- Bates, L., Waldren, S.R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205–207.
- Chen, G.C., Liua, Z., Zhanga, J., Owens, G., 2012. Phytoaccumulation of copper in willow seedlings under different hydrological regimes. *Ecological Engineering* 44(1): 285–289.
- Haque, N., Jose, R., Peralta-Videa, L., Gary Jones, I., Thomas, E., Jorge, L., Gardea, T., 2008. Screening the phytoremediation potential of desert broom (*Baccharis sarothroides* Gray) growing on mine tailings in Arizona, USA.

Environment Pollution 153: 362–368.

9. Hu, R., Sun, K., Su, X., Pan, Y.X., Zhang, Y.F., Wang, X.P., 2012. Physiological responses and tolerance mechanisms to Pb in two xerophils *Salsola passerine Bunge* and *Chenopodium album L.* *Journal of Hazardous Materials* 205: 131–138.
10. Hussain, S.S., M. Ali., Ahmad, M., Siddique, K.H.M., 2011. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances* 29(3): 300–311.
11. Gaida, M., Landoulsi, M., Rejeb, N.R., Smiti, S., 2013. Growth and photosynthesis responses of *Rosmarinus officinalis L.* to heavy metals at Bougrine mine. *African Journal of Biotechnology*. 12(2): 150–161.
12. Gupta, D.K., Huang, H.G., Corpas, F.J., 2013. Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 20: 2150–2161.
13. Iranbakhsh, A.R., Majid, A., Naghavi, F., 2010. The study of the effects of lead and zinc on seed germination and seedling growth of soybean (*Glycine max L.*). *Journal of Plant Science Research* 5(4): 63–73. (In Persian with English abstract)
14. Jadia, C.D., Fulekar, M.H., 2008. Phytotoxicity and remediation of heavy metals by fibrous root grass (sorghum). *Journal of Applied Bioscience* 10(1): 491–499.
15. Jiang, N., Luo, X., Zeng, J., Yang, Z.R., Zheng, L., Wang, S.T., 2010. Lead toxicity induced growth and antioxidant responses in *Luffa cylindrica* seedlings. *International Journal of Agriculture of Biology* 12(2): 205–210.
16. Jorge, L., Gardea-Torresdeya, B., Jose, R., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination chemistry reviews* 249: 1797–1810.
17. Kabir, M., Iqbal, M.Z., Shafiq, M., Farooqi, Z.R., 2008. Reduction in germination and seedling growth of *Thespesia populnea L.* caused by lead and cadmium treatments. *Pakistan Journal of Botany* 40(6): 2419–2426.
18. Keshtkar, E., Solvejg, K., Kudsk, M.P., 2017. No vegetative and fecundity fitness cost associated with acetyl-coenzyme a carboxylase non-target-site resistance in a black-grass (*Alopecurus myosuroides Huds*) population. *Frontier in Plant Science*. 8(2011), doi: 10.3389/fpls.2017.02011.
19. Kohl, D.H., Schubert, K.R., Carter, M.B., Hagedorn, C.H., Shearer, G., 1998. Proline metabolism in N₂-fixing root nodules: Energy transfer and regulation of synthesis. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences* 85: 2036–2040.
20. Lesko, K., Simon-Sarkadi, L., 2002. Effect of cadmium stress on amino acid and polyamine content of wheat seedlings. *Periodica in Polytechnica Engineering* 46: 65–71.
21. Li, T., Islam, E., Yang, X., Liu, D., Jin, X., Meng, F., 2007. Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the tow ecotype *Elsholtzia argyi*. *Journal of Hazardous Materials* 147: 806–816.
22. Maguire, J.D., 1962. Speed of germination - Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2(2): 176–177.
23. Mansour, M.M.F., 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biology of Plant* 43: 491–500
24. Marin, M., Varga, L., Mihaly- Cozmuta, A., Mihaly- Cozmuta, A., Boltea, D., 2009. Evaluation of the phytoremediation potential of the populous tremula in tailing ponds. *Bulletin UASVM Agriculture* 66(2): 124–131.
25. Mehmet Tuğrul, K., 2019. Soil Management in Sustainable Agriculture, Sustainable Crop Production, Mirza Hasanuzzaman, Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, Masayuki Fujita and Thiago Assis Rodrigues Nogueira, Intech Open,
26. Mishra, A., Choudhuri, M.A., 1997. Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth indices in two rice cultivars. *Indian Journal of Plant Physiology* 2: 41–44.
27. Moradli, A., Farzamisepheh, M., Hani, A., 2012. The effect of the interaction of heavy metals: chromium and zinc on growth in the cultivation of ornamental cabbage seedlings 30 days in hydroponic conditions. Third National Conference on Agriculture and Food Sciences, September, Fasa, Iran.
28. Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology* 22: 867–880.
29. Ouzounidou, G., 1995. Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleriasplendens*. *Biology of Planta* 37: 71–78.
30. Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A., Pandey, A., 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum L.*). *Biology of Fertilizer Soils* 47(8): 853–861.
31. Rahnama, A., Bakhshandeh, A., 2006. Determination of optimum row spacing and plant density for uni-branched sesame in Khuzestan province. *Journal of Agricultural Science and Technology* 8: 25–33.
32. Raymond, A., Wuana, F.E.O., 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholar Research Notices*. Article ID 402647, 1–20. doi:10.5402/2011/402647.
33. Ribeiro de souza, S.C., Adrian Lopez de Andrade, S., Anjos de souza, L., Schiarinato, M.A., 2012. Lead tolerance

- and phytoremediation potential of Brazilian leguminous tree species at the seedling stage. *Journal of Environmental Management* 110: 299–307.
34. Salehi, A., Tabari, M., Shirvani, A., 2014. Survival, growth and Pb concentration of *Populus alba* (clone 44/9) seedling in Pb contaminated soil. *Iranian Journal of Forest* 6(4): 419–433.
35. Sasmaz, A., Obek, E., 2008. The accumulation of heavy metals in *Typha latifolia* L. grown in a stream carrying secondary effluent. *Ecology of engineering* 33: 278–284
36. Schoonover, J.E., Crim, J.F., 2015. An introduction to soil concepts and the role of soils in watershed management. *Journal of Contemporary Water Research and Education* 154(1): 21–47.
37. Sekara, A., Poniedzialek, M., Ciura, J., 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.
38. Sfaxi Bousbih, A., Chaoui, A., El Ferjani, E. 2010. Cadmium impairs mineral and carbohydrate mobilization during the germination of bean seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety Environ Safe* 73: 1123–1129.
39. Sharma, P., Dubey, R., 2005. Lead toxicity in plant. *Plant Physiology* 17: 32–52.
40. Stojković, M., Jevtić, M., Jovana, P., 2019. Metal content in common daisy (*Bellis perennis* L.) and correspond soils from Niš city area (Serbia). *Chemia Naissensis* 2(1): 96–109.
41. Stoltz, E., Greger, M., 2002. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. *Environmental and Experimental Botany* 47: 271–280.
42. Soltani Javid, A., Moraghebi, F., Farzamisepehr, M., 2013. The role of heavy metals in Robat Karim mine in morphological differentiation of Ephedra. 2nd National Conference on New Concepts in Agriculture, Islamic Azad University, Saveh Branch.
43. Surat, H., Aybar, M., 2021. A study about recycling into the nature and the rehabilitation of open mines through murgul sample case. *Fresenius Environmental Bulletin* 30: 5194–5210.
44. Tabrizi, L., Mohammadi, S., Delshad, M., Moteshare Zadeh, B., 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and phytoremediation performance of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under heavy metals stress. *International Journal of Phytoremediation* 17(12): 1244–1252.
45. Tauqeer, H., Ali. M., Rizwan, S., Ali. M., Saeed, Q., Iftikhar, U.R., Abbasi, G.H., 2016. Phytoremediation of heavy metals by *Alternanthera bettzickiana*: Growth and physiological response. *Ecotoxicology and Environment Safety* 126: 138–146.
46. Thi, D.C.N., Thi T.N., Hanh, T.N.L., Thi, TTN., Long, G.B., Trinh, D.N., Dai-Viet, N.V., Thuan, V.T., 2021. The sunflower plant family for bioenergy, environmental remediation, nanotechnology, medicine, food and agriculture: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19: 3701–3726.
47. Umebese, C.E., Motajo, A.F., 2008. Accumulation, tolerance and impact of aluminum, copper and zinc on growth and nitrate reductase activity of *Ceratophyllum demersum* (Hornwort). *Journal of Environment and Biology* 29: 197–200.
48. United States Environmental Protection Agency. 1987. Test Methods of Evaluation of Soil Waste. USEPA Washington, D.E. USEPA S/W, 846.
49. Walker-Simmons, M., Sesing, J., 1990. Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation* 9: 51–56.
50. Wang, P., Zhang, S., Wang, C., Lu, J., 2012. Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant *Vallisneria spiralis*. *Ecotoxicology and Environment Safety* 78: 28–34.
51. Xu, W.T., Peng, X.L., Luo, Y.B., Wang, J., Guo, X., Huang, K.L., 2009. Physiological and biochemical responses of grape fruit seed extract dip on 'Redglobe' grape. *LWT-Food Science Technology* 42: 471–476.
52. Zengin, F.K., Munzuroglu, O., 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 47: 157–164.
53. Zhao, Y.D., Pan, Y.Z., Liu, B.Y., 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.
54. Zheljaskov, V.D., Jeliazkova, E.A., Kovacheva, N., Dzhurmanski, A., 2008. Metal uptake by medicinal plant species grown in soils contaminated by a smelter. *Environmental and Experimental Botany* 64(3): 207–216.



Evaluation of Morphological and Biochemical Changes in *Bellis perennis* under Lead-Contaminated Soils

M.S. Sadeghi¹, N. Ahmadi^{1*} and E. Keshkar²

(Received: 15 September 2021; Accepted: 10 November 2021)

Abstract

Heavy metals, as a limiting factor, affect plant physiological characteristics. Heavy metals toxicity leads to poor seed germination and limited plant growth. The effect of heavy metal lead (Pb) at six concentrations was investigated on morphological and biochemical traits of *Bellis perennis* in a completely randomized design experiment with five replications. Also, the ability of lead absorption by *B. perennis* was evaluated. The results showed that at higher concentrations of Pb, the percentage and rate of seed germination were decreased. Other traits such as root and shoot dry weights decreased significantly with increased lead concentrations by 70% and 23%, respectively. Total chlorophyll *a + b* decreased as Pb concentration was increased (66%). Proline accumulation and activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes increased significantly at higher concentrations of Pb by 30%, 42%, and 42%, respectively. Based on the changes in some plant traits such as enrichment coefficient, phytoextraction potential, and tolerance index, it can be concluded that *B. perennis* might have a high potential for phytoremediation, and also lead metal refining ability. It was observed that the Pb application did not prevent seed germination of *B. perennis*, but increasing concentrations disrupted some seed germination traits. *Bellis perennis* showed good tolerance at low concentrations of Pb, while at higher concentrations, the tolerance index decreased by about 60%, suggesting an acceptable tolerance at high concentrations. Significant accumulation of Pb in the roots of *B. perennis* indicated it is a suitable plant for phytoremediation in lead-contaminated environments.

Key words: Heavy metal, Ornamental species, Plant resistance, Phytoremediation, Transport factor.

Background and Objective: In recent decades, fertilizers, livestock manure, sewage sludge, pesticides, and sewage wastewater irrigation have significantly increased soil contamination with heavy metals. Heavy metals, as a limiting factor in plant growth, affect the properties of plants (1, 2). The sunflower family is an economically and ornamental family. As an ornamental species, *B. perennis* belongs to this plant family and was used in this study. According to our knowledge, *B. perennis* has a good ability for soil purification from heavy metals (3). This study aimed to evaluate *B. perennis* tolerance in an environment polluted with lead.

Methods: In this study, the effect of lead (Pb) on morphological and biochemical traits of *B. perennis* was investigated at Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran. Also, the ability of *B. perennis* for Pb absorption with five replications was evaluated by atomic absorption spectroscopy technique. In this study, some

1- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

* Corresponding Author: ahmadin@modares.ac.ir

morphological parameters such as root and shoot dry weights of *B. perennis* followed by percentage and speed of seed germination, and also biochemical parameters including chlorophyll *a* and *b* and carotenoid content, proline content and antioxidant activity, resistance index, potential phytoextraction, and tolerance index were investigated.

Results: The results showed that increasing the Pb concentrations decreased the germination percentage and seed germination rate of *B. perennis*. Growth traits such as root and shoot dry weights decreased significantly with increasing Pb concentrations. Chlorophyll *a* and *b* decreased with increasing Pb concentrations. Proline accumulation and activity of catalase and ascorbate peroxidase antioxidant enzymes increased significantly with increasing Pb concentrations.

Conclusions: According to calculated indices such as enrichment coefficient, phytoextraction potential and tolerance index, the *B. perennis* plant has a high potential for phytoremediation of Pb. This study showed that different concentrations of Pb did not prevent germination of *B. perennis*, but higher concentrations of Pb disrupted some seed germination indices. Plants grown in contaminated soil samples with low concentrations of Pb had a very good tolerance, although at high concentrations the tolerance index decreased by about 60%, suggesting an acceptable tolerance index at high concentrations of Pb. Significant accumulation of Pb in the root system of *B. perennis* also indicated lead stabilization in *B. perennis*'s root, confirming that it is a suitable plant for phytoremediation in lead-contaminated environments.

References:

1. Mehmet Tuğrul, K., 2019. Soil Management in Sustainable Agriculture, Sustainable Crop Production, Mirza Hasanuzzaman, Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, Masayuki Fujita and Thiago Assis Rodrigues Nogueira, Intech Open.
2. Raymond, A., Wuana, F.E.O., 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholar Research Networks*. Article ID 402647. 1–20. doi:10.5402/2011/402647.
3. Stojković, M., Jevtić, M., Jovana, P., 2019. Metal content in common daisy (*Bellis perennis* L.) and correspond soils from Niš city area (Serbia). *Chemia Naissensis* 2(1): 96–109.