مجله علوم باغبانی ایران
دوره ۴۲، شماره ۳، ۱۳۹۰ (۲۸۹-۲۷۷)

تأثیر غلظت‌های مختلف سرب بر جوانه‌زنی بذر جنس‌های چمن و ارزیابی پتانسیل جذب آن به منظور گیاه‌پالایی

مینا تقی‌زاده[۱]*، محسن کافی[۲]، محمدرضا فتاحی مقدم[۳] و غلامرضا ثواقبی[۴]
۱، ۲، ۳، ۴، دانشجوی دکتری و دانشیاران پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۸ - تاریخ تصویب: ۸۹/۴/۱۲)

چکیده

اخیراً استفاده از گیاهان تجمع‌کننده فلزات سنگین برای پالایش مناطق آلوده بسیار مورد توجه قرار گرفته است. سرب یکی از مهمترین آلاینده‌هایی است که تجمع غلظت‌های نسبتاً بالایی از این فلز در برخی مناطق گزارش شده است. در این تحقیق توانایی تحمل بذر جنس‌های چمن در مرحله جوانه‌زنی به غلظت‌های مختلف سرب و در مرحله استقرار گیاه بررسی گردید. در بخش اول این تحقیق نیترات سرب در غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مرحله جوانه‌زنی به کار برده شد. بخش دوم با اضافه نمودن غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب به خاک در مرحله استقرار اجرا گردید. صفاتی که در این آزمایش‌ها اندازه‌گیری شدند، شامل درصد جوانه‌زنی، روند جوانه‌زنی در طی زمان، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، عرض برگ، میزان کلروفیل برگ و میزان تجمع سرب در اندام هوایی و ریشه بود. طبق نتایج با افزایش غلظت سرب، درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه نسبت به شاهد افزایش یافت ولی بر رشد ریشه‌چه اثر بازدارندگی داشت. فاکتورهای رشدی چمن در مرحله استقرار تحت تأثیر غلظت‌های سرب قرار نگرفت. میزان تجمع سرب در ریشه‌ها نسبت به اندام‌های هوایی بیشتر بود. با افزایش میزان سرب در خاک میزان تجمع سرب در اندام‌های چمن افزایش یافت. به طور کلی در بین سه جنس مختلف چمن، رایگرس با ۴۷۳/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و کنتاکی بلوگرس با ۱۱۲۱/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در اندام هوایی داشتند. در حالی که برموداگرس ۸۷۷/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و رایگرس با ۲۷۴۳/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در ریشه نشان دادند. ارزیابی تحمل و توانایی پالایندگی نشان داد رایگرس می‌تواند به عنوان یک گیاه پوششی و سوپرجاذب در مکان‌های آلوده به سرب استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: نیترات سرب، پالایش، کنتاکی بلوگرس، رایگرس، برموداگرس.

مقدمه

امروزه آلودگی فلزات سنگین یکی از مشکلات مهم محیط زیست می‌باشد. این دسته فلزات با تجمع در زنجیره غذایی خطرات بسیار زیادی برای بشر و جانداران

* نویسنده مسئول: مینا تقی‌زاده تلفن: ۰۹۱۲-۴۶۶۶۱۴۳ E-mail: taghizade@ut.ac.ir

دارند (Alloway, 1990). در بین فلزات سنگین، سرب (Pb) یکی از مهمترین آلاینده‌ها است که با ورود به محیط زیست و تجمع در بدن انسان باعث بروز مشکلات بسیاری از جمله بیماری‌هایی مانند کاهش هوش و توان یادگیری، عقب افتادگی ذهنی، خستگی، کم‌خونی، افسردگی و بی‌خوابی می‌گردد. بنابراین تجمع سرب در محیط بسیار خطرناک است و با کاربرد روش‌هایی باید آن را از محیط زیست پالایش نمود. منابع مهم آلاینده سرب شامل فعالیتهای معادن، صنایع، دود حاصل از فعالیت وسایل نقلیه، ترکیبات حاوی سرب مانند رنگ‌ها، گازوئیل، مواد منفجره و لوله‌های آب می‌باشند (Huang et al., 1997). در برخی مناطق دنیا غلظت‌های نسبتاً بالایی از آلایندگی سرب گزارش شده است. برای مثال غلظت‌هایی در حدود ۷۰۰۰ میلی‌گرم در گرم در خاک‌های کنار جاده و ۱۳۳۸۰ میلی‌گرم در گرم در خاک‌های اطراف معادن از این فلز گزارش شده است. طبق منابع موجود تخمین زده شده است که در طی ۵ دهه گذشته در سطح جهانی در حدود ۷۸۳٫۰۰۰ تن سرب در محیط رها شده باشد (Knasmuller et al., 1998).

نقش بیولوژیکی خاصی برای سرب در گیاهان شناخته نشده است. علایم سمیت سرب در گیاهان به صورت تیره شدن رنگ برگ‌ها، توقف رشد قسمت هوایی، کاهش زیست‌توده، کاهش سنتز کلروفیل و حتی ناهنجاری‌های کروموزومی دیده شده است (Xiong, 1998)، که مکانیزم این صدمات فیزیولوژیکی به پدیده‌هایی نظیر: برهم زدن تعادل آبی و عناصر در گیاه، بازدارندگی در سنتز سایتوکنین‌ها، اختلال در تقسیمات میتوزی و میوزی، ترکیب با پروتئینهای آنزیمی، تغییر لیپیدهای غشا، تأثیر در نفوذپذیری غشا، تغییرات هورمونی و کاهش در سنتز کلروفیل نسبت داده می‌شود (Prasad, 2004).

اگرچه جلوگیری از آلایندگی فلزات سنگین اصل اولیه می‌باشد، ولی این مساله در گذشته کمتر مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های گوناگونی به منظور پالایش و تصفیه فلزات سنگین از خاک و آب وجود دارد که این روش‌ها اغلب هزینه و زمان بر می‌باشند، علاوه براینکه هنوز برای همه انواع آلودگی‌ها این روش‌ها توسعه نیافته است. اخیرا استفاده از گیاهان تجمع دهنده فلزات سنگین (گیاهان ابرجاذب)[1] برای پالایش مناطق آلوده بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است (McGrath & Zhao, 2003). گیاه پالایی یک روش نوظهور است که شامل کاربرد گیاهان به منظور تجمع و حذف آلودگی‌ها از خاک، پس ماندها و فاضلاب می‌باشد (Lasat et al., 1998; Singh et al., 2003). در این تکنولوژی گیاهان خاصی وجود دارند که قادرند بسیاری از آلاینده‌ها را از جمله ترکیبات نفتی، حلال‌های کلردار، آفت‌کش‌ها، فلزات سنگین و ترکیبات رادیواکتیو را پالایش نمایند. گیاهان ابرجاذب به گیاهانی گفته می‌شود که که حداقل توانایی تجمع ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (۰/۰۱ درصد وزن خشک) کادمیم، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (۰/۱ درصد وزن خشک) کبالت، مس، کروم، نیکل و سرب و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (۱ درصد وزن خشک) منگنز و روی را داشته باشند (Reeves & Baker, 2000; Kramer & Chardonnens, 2001). تا کنون ۳۰ گونه گیاهی برای کبالت، ۳۴ گونه گیاهی برای مس، ۸ گونه گیاهی برای منگنز، ۱۴۵ گونه گیاهی برای نیکل، ۱۴ گونه گیاهی برای سرب، ۲۰ گونه گیاهی برای سلنیوم، ۱ گونه گیاهی برای کادمیم و ۴ گونه گیاهی برای روی به عنوان گیاهان ابر جاذب گزارش شده‌اند (Reeves & Baker, 2000). این گونه‌های گیاهی به طور طبیعی ۱۰۰-۵۰ برابر بیشتر نسبت به سایر گیاهان عناصر سنگین را در خود تجمع می نمایند. به هر حال مشکلی که این گونه‌های گیاهی دارند این است که اغلب دارای اندازه کوچک و رشد کمی هستند که این مساله باعث محدودیت در حذف آلودگی‌ها می‌شود. جذب فلزات در گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلف خاکی نظیر pH، مواد آلی، ظرفیت تبادل کاتیونی، سن گیاه و گونه گیاهی قرار می‌گیرد (Baker & Brooks, 1989; Kramer & Chardonnens, 2001).

به منظور توسعه روش گیاه پالایی، شناسایی گیاهانی که توانایی تولید زیست‌توده[2] بالایی داشته

1. Hyperaccumulator
2. Biomass

باشند ضروری است (Baker & Brooks, 1989). تحقیقاتی مبنی بر اینکه بعضی از گیاهان قادرند سرب را از خاک‌های آلوده پالایش نمایند، وجود دارد (Huang et al., 1997). برخی از گیاهان زینتی از جمله خرزهره[1] و اختر[2] قادر به تجمع سرب از مناطق فضاهای سبز شهری می‌باشند. به عنوان نمونه، دیده شده که خرزهره ۷۸ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب را در برگ‌های خود تجمع نموده است. در تحقیقی دیگر بمنظور گیاه پالایی سرب مشاهده شد که کاشت شمعدانی معطر[3] با تراکم ۱۰۰ گیاه در مترمربع توانایی حذف تا حدود ۷۲ گرم سرب در مترمربع در سال از خاک را دارد (Prasad, 2004).

در بین گیاهان زینتی آبی، سنبل آبی[4] قادر است سرب را از فاضلاب‌های صنعتی آلوده در شرایط هیدروپونیک حذف نماید. در آزمایش مربوطه دیده شد که در غلظت‌های کم سرب(۲۰/۷۲ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین تجمع سرب در ریشه و برگ‌ها وجود دارد ولی در غلظت‌های بالاتر (۲۰۷/۲ میلی‌گرم در لیتر) سرب بیشتر در اندام دمبرگ تجمع می‌یابد (Tin Win et al., 2003).

با گسترش شهرنشینی، چمن یکی از عناصر لازم و بخش جدا نشدنی تزئینات گیاهی در احداث پارک‌ها و فضای سبز است. علاوه بر نقش اساسی چمن به دلیل داشتن رشد گسترده و تولید مقادیر بالای زیست‌توده که عامل مهمی در کارآیی یک گیاه پالاینده محسوب می‌گردد، می‌تواند به عنوان یک گیاه پالاینده آلودگی‌های صنعتی در مناطق شهری و حومه شهرها مورد استفاده قرار گیرد (Jones et al., 1973). با این وجود تحقیقات اندکی به منظور ارزیابی مقاومت و میزان پالایندگی چمن‌ها به آلاینده ها خصوصا فلزات سنگین در منابع علمی موجود است.

در زمینه اثرات فلزات سنگین در مرحله جوانه‌زنی بذر در گیاهان گزارش‌های چندانی در دسترس نمی‌باشد. بنابراین هدف این تحقیق بررسی میزان تحمل چمن در مرحله جوانه‌زنی به غلظت‌های مختلف و همچنین بررسی تجمع سرب در مرحله استقرار در چند جنس چمن متداول و مورد کشت و کار در شرایط خاکی بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و پیش تیمارهای آزمایش

چمن‌های مورد استفاده در این آزمایش جنس‌های چمن متداول در ایران شامل برمودا‌گرس (*Cynodon dactylon*)، کنتاکی بلوگرس (*Poa pratensis*) و رایگرس (*Lolium perrene*) بودند. این آزمایش‌ها در سالهای ۱۳۸۷- ۱۳۸۶ در گلخانه‌ها و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گرفت. در اولین مرحله برای رفع آلودگی، بذور با قارچ‌کش بنومیل ۲ درهزار به مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس به منظور اطمینان از قوه نامیه بذور، تست جوانه‌زنی بذر انجام گرفت که نتایج نشان دهنده جوانه‌زنی بیش از ۹۰٪ بذور بود.

بخش اول- ارزیابی جوانه‌زنی بذر چمن در حضور سرب

در این آزمایش نیترات سرب $Pb(NO_3)_2$ با خلوص بیش از ۹۹٪ از شرکت مرک (Merck) استفاده گردید. غلظت‌های مورد استفاده نیترات سرب شامل ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بذور ضدعفونی شده در پتری‌دیش‌های شیشه‌ای استریل و بین دو کاغذ صافی قرار داده شدند. در هر پتری‌دیش ۲۰ عدد بذر یکنواخت قرار داده شد و در حدود ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سرب در غلظت‌های اشاره شده به آنها اضافه گردید. بذور در شرایط روشنایی و دمای ۲۴°C به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و روند جوانه‌زنی در طی ۱۰ روز پس از شروع آزمایش و همچنین درصد جوانه‌زنی کل در روز دهم ثبت گردید.

بخش دوم- ارزیابی میزان تجمع سرب در اندام‌های چمن

به منظور بررسی میزان تحمل، جذب و تجمع سرب توسط سه جنس متداول چمن، آزمایش گلدانی اجرا گردید. بذرهای چمن در استوانه‌های به ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر که حاوی خاک زراعی، کود دامی و شن به نسبتهای مساوی بود کاشته شدند. مقدار بذر در هر گلدان به میزان ۲۰ گرم در

1. *Nerium oleander*
2. *Canna generalis*
3. *Plargonium sp.*
4. *Echhornia crassipes*

مترمربع بود. گلدان‌ها به طور روزانه آبیاری شدند و قبل از اولین سربرداری با کود کامل N-P-K تغذیه شدند. غلظت‌های به کار رفته سرب در این آزمایش شامل: ۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود که به صورت محلول پس از اولین سربرداری اضافه گردید.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات

گیاهان ۱۲۰ روز پس از کاشت برداشت شدند. گیاهان برداشت شده به ۲ قسمت مجزا ریشه و ساقه تقسیم شده و ریشه‌ها به منظور حذف ذرات خاک به آرامی شسته شدند. اندازه‌گیری کلروفیل بلافاصله پس از برداشت اندام‌های هوایی انجام گرفت. محتوای کلروفیل برگ با استفاده از روش استاندارد استون ۸۰ درصد استخراج گردید و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۸۰۰-۳۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در دمای معمولی اتاق به مدت ۲-۱ ساعت نمونه‌ها به منظور خشک شدن آب حاصل از شستشو نگهداری شدند و سپس طول ریشه، طول قسمت هوایی و وزن تازه ریشه و قسمت هوایی اندازه‌گیری شد. ریشه‌ها و قسمت هوایی در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس وزن خشک هر بخش گیاهی ثبت گردید. جهت تعیین میزان سرب جذب شده نمونه‌ها، اندام‌های ریشه و برگی آسیاب و سپس یک گرم از هر نمونه وزن گردید و در کوره در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت خاکستر شد. خاکستر مورد نظر در ۲۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک[1] یک نرمال به روش بن‌ماری هضم و سپس توسط کاغذ واتمن ۴۲ صاف گردید. عصاره نمونه‌ها به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رسانده شد و با دستگاه جذب اتمی (ASS) مدل Shimadzu AA-670 غلظت سرب خوانده شد.

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

این آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در بخش اول آزمایش فاکتورهای غلظت سرب در ۵ سطح، جنس گیاهی چمن در ۳ سطح و زمان در ۱۰ مرحله یادداشت‌برداری گردید و بخش دوم آزمایش فاکتورهای غلظت سرب در ۴ سطح، نوع اندام در ۲ سطح و جنس گیاهی چمن در ۳ سطح بر روی صفات ذکر شده در بخش قبل مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده نرم‌افزار SAS تجزیه و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) انجام گرفت.

1. HNO_3

نتایج

بخش اول- ارزیابی جوانه‌زنی بذر چمن در حضور سرب

طبق جدول تجزیه واریانس به جز اثر تیمار سرب سایر عامل‌ها نظیر جنس، زمان و اثرات متقابل جنس × زمان، غلظت × زمان و جنس × زمان× غلظت بر روند جوانه‌زنی در طی زمان بذر معنی‌دار شد (جدول ۱). در کنتاکی بلوگرس با افزایش غلظت سرب از ۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر، روند جوانه‌زنی در طی زمان افزایش یافت در حالی که غلظت‌های بالاتر موجب کند شدن این روند گردید (شکل ۱). در مورد رایگرس نتایج متفاوت بود به طوری که غلظت‌های ۴۰۰ الی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث بیشتر شدن روند جوانه‌زنی در طی زمان نسبت به غلظت‌های پایین گردید (شکل ۲). برموداگرس در کل نسبت به دو جنس دیگر چمن روند جوانه‌زنی کندتری داشت و در پاسخ به غلظت‌های بالای سرب واکنش مثبتی در مقایسه با شاهد (آب مقطر) از خود نشان داد. به طوری که ۷ روز پس از کاشت و اعمال تیمار سرب افزایش معنی‌دار روند جوانه‌زنی در تمامی غلظت‌های سرب نسبت به شاهد دیده شد (شکل۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان، نوع چمن و تیمار نیترات سرب بر روند جوانه‌زنی چمن

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
جنس چمن	۲	۰/۸۶ **
زمان	۶	۵/۵۶ **
غلظت سرب	۴	۰/۲۳ n.s.
جنس × زمان	۱۲	۲/۱۳ **
جنس × غلظت	۸	۰/۳۱ n.s.
زمان × غلظت	۲۴	۰/۳۴ **
جنس × زمان× غلظت	۴۸	۰/۲۸ **
خطا	۲۱۰	۰/۱۴

**: در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شده است. CV = ٪۲۳/۹

n.s: معنی‌دار نشده است.

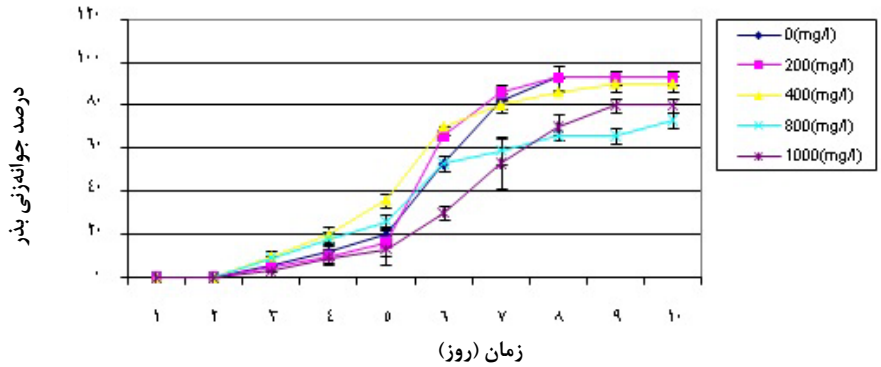
اثر جنس، تیمار سرب و اثرات متقابل آنها بر درصد جوانه‌زنی کل نیز در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار گردید (جدول۲). رایگرس بیشترین درصد جوانه‌زنی کل و برموداگرس کمترین درصد جوانه‌زنی را در غلظت‌های صفر الی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر دراین آزمایش داشت. نتیجه قابل توجه در این تحقیق اثر مثبت تیمارهای سرب بر درصد جوانه‌زنی کل نسبت به شاهد بود. هر چند درصد جوانه‌زنی کل با افزایش غلظت سرب از صفر الی ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر در جنس‌های چمن افزایش نشان داد ولی در غلظت‌های بالاتر جوانه‌زنی کل کاهش یافت. افزایش غلظت‌های مختلف سرب در محیط جوانه‌زنی برموداگرس، افزایش چشمگیری بر درصد جوانه‌زنی کل نسبت به شاهد داشت (شکل۴). بیشترین درصد جوانه‌زنی کل در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۹۰٪ و کمترین آن در غلظت ۰ میلی‌گرم در لیتر با ۶۲٪ مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع چمن و تیمارهای نیترات سرب بر درصد کل جوانه‌زنی

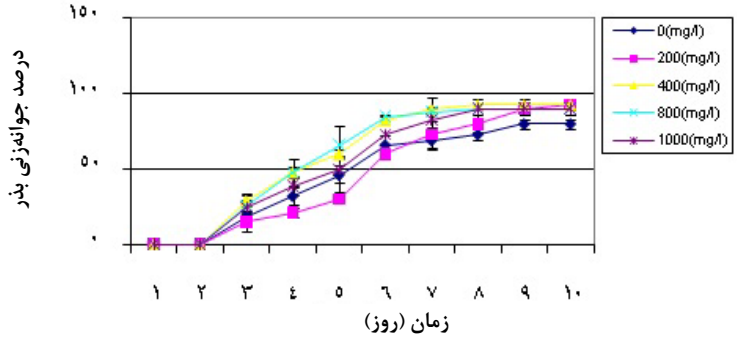
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
جنس چمن	۲	۳۱۰۲/۲۲**
غلظت سرب	۴	۱۰۴۱/۱۱**
جنس × غلظت	۸	۸۹۱/۱۱**
خطا	۳۰	۱۴۰

**: در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شده است. CV = ٪۱۴/۸

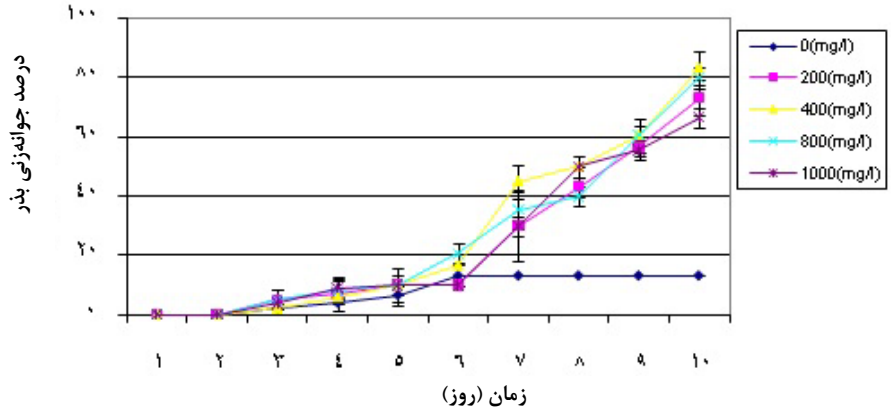
نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات جنس چمن و غلظت سرب بر طول ساقه‌چه در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود ولی اثرات متقابل آنها معنی‌دار نگردید (جدول ۳). در اثر کاربرد سرب در مرحله جوانه‌زنی طول ساقه‌چه نسبت به شاهد (آب مقطر) افزایش یافت اما بین غلظت‌های متفاوت اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۵).



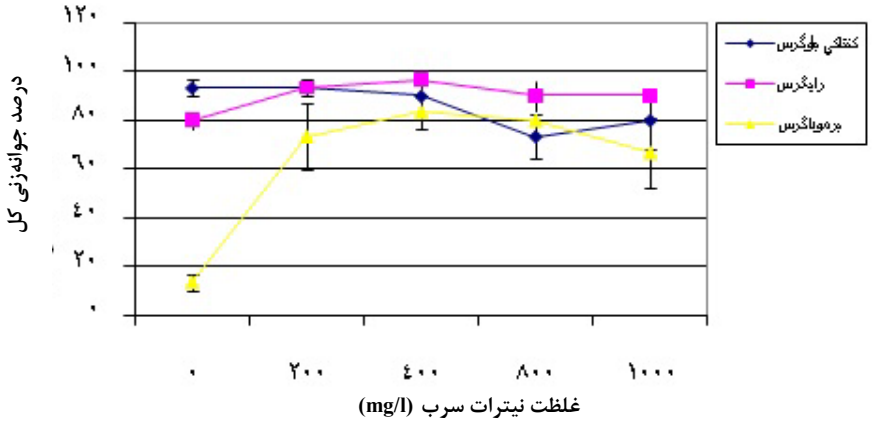
شکل ۱- روند جوانه‌زنی چمن کنتاکی بلوگرس در حضور غلظت‌های متفاوت نیترات سرب (۰، ۸۰۰،۴۰۰،۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)



شکل ۲- روند جوانه‌زنی چمن رایگرس در حضور غلظت‌های متفاوت نیترات سرب (۰، ۸۰۰،۴۰۰،۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)



شکل ۳- روند جوانه‌زنی چمن برمودا‌گرس در حضور غلظت‌های متفاوت نیترات سرب (۰، ۸۰۰،۴۰۰،۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)



شکل ۴- اثرات متقابل غلظت‌های متفاوت نیترات سرب و جنس چمن بر جوانه‌زنی کل بذر آن

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر نوع چمن و تیمارهای سرب بر طول ساقه‌چه

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
جنس چمن	۲	۹۹/۹۶ **
غلظت سرب	۴	۱/۱۹ **
جنس × غلظت	۸	۰/۱۴ n.s.
خطا	۳۰	۰/۲۳

**: در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شده است. CV = ٪۱۹/۷

n.s: معنی‌دار نشده است.

اثرات ساده و متقابل جنس چمن و غلظت سرب بر طول ریشه‌چه معنی‌دار گردید (جدول ۴). با افزایش غلظت سرب طول ریشه‌چه کاهش یافت به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین طول ریشه‌چه و در شاهد بیشترین طول ریشه‌چه حاصل گردید (جدول۵). تأثیر بازدارندگی در طول ریشه‌چه با افزایش غلظت سرب در رایگرس و کنتاکی بلوگرس در این آزمایش کاملاً محسوس بود (شکل ۵).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر نوع چمن و تیمارهای نیترات سرب بر طول ریشه‌چه

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
جنس چمن	۲	۱/۵۲ **
غلظت سرب	۴	۰/۱ **
جنس × غلظت	۸	۰/۰۹ **
خطا	۳۰	۰/۰۲

**: در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شده است.

CV = ٪۱۴/۱

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های متفاوت نیترات سرب بر درصد جوانه‌زنی کل، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه چمن

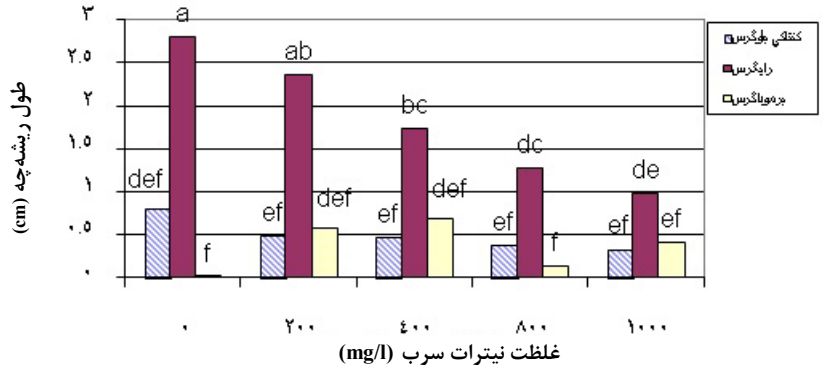
تیمارهای سرب (mg/l) .	درصد جوانه‌زنی کل	طول ساقه‌چه (cm).	طول ریشه‌چه (cm) .
۰	۶۲/۲۲ b	۱/۸ b	۱/۲ a
۲۰۰	۸۶/۶۶a	۲/۵۹ a	۱/۱۴ a
۴۰۰	۹۰ a	۲/۷۲ a	۰/۹۶ ab
۸۰۰	۸۱/۱۱ a	۲/۴۶ a	۰/۵۹ b
۱۰۰۰	۷۸/۸۸ a	۲/۵۹ a	۰/۵۷ b

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.

بخش دوم- ارزیابی رشد چمن در حضور سرب

جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات جنس، غلظت سرب، اندام و اثر متقابل اندام در جنس در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۶). در بین این سه جنس چمن رایگرس با ۳۲۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک بیشترین تجمع سرب و برمودا‌گرس با ۱۳۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک کمترین تجمع سرب را داشتند (شکل ۶).

طبق شکل ۷ با افزایش غلظت تیمار سرب در خاک، میزان تجمع سرب در چمن افزایش یافت. با کاربرد غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سرب در خاک، چمن توانست بیشترین تجمع سرب (حدود ۴۳۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک) و عدم کاربرد سرب (شاهد) کمترین میزان تجمع سرب (۲۳۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک) را داشته باشد (شکل ۷).



شکل ۵- اثر متقابل غلظت‌های متفاوت نیترات سرب و جنس چمن بر طول ریشه‌چه در مرحله جوانه‌زنی
(میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.)

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر نوع چمن، اندام و تیمار نیترات سرب بر میزان تجمع سرب

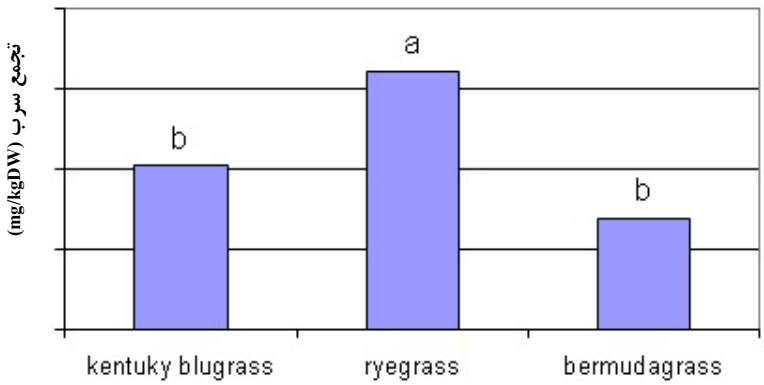
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
جنس چمن	۲	۶/۰۱ **
اندام	۱	۱۸/ ۳۷ **
غلظت سرب	۳	۳۴/۳۳ **
جنس × اندام	۲	۱۴/۴۸ **
اندام × غلظت	۳	۱/۴۲ n.s.
جنس × غلظت	۶	۰/۹۲ n.s.
جنس × اندام× غلظت	۶	۱/۱۵ n.s.
خطا	۴۸	۰/۶
		CV ٪۲۶/۳

**: در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شده است.
n.s.: معنی‌دار نشده است.

اندام‌های زیرزمینی در چمن پتانسیل بالاتری را برای تجمع از خود نشان دادند به طوری که ریشه‌ها ۱۵۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک تجمع سرب داشتند که در حدود ۲ برابر بیشتر نسبت به اندام‌های هوایی (۶۹۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک) بود (شکل ۸).

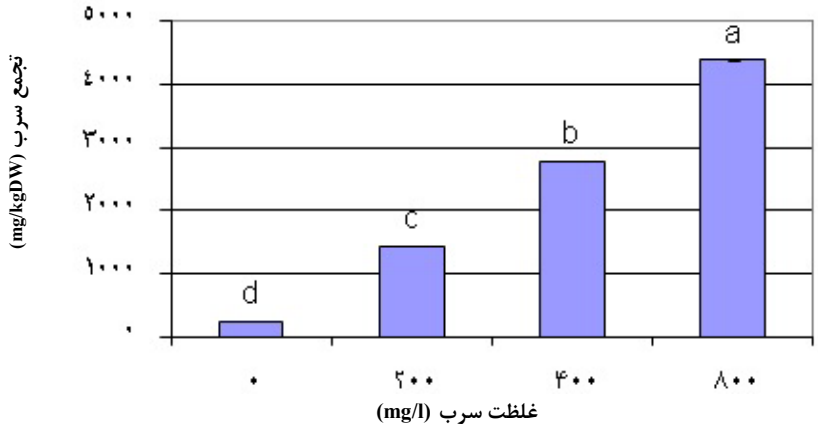
به‌طور کلی در بین سه جنس مختلف چمن، رایگرس با ۴۷۳/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و کنتاکی بلوگرس با ۵/ ۱۱۲۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در اندام هوایی و برمودا‌گرس با ۸۷۷/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و رایگرس با ۲۷۴۳/۲ میلی‌گرم در

کیلوگرم وزن خشک به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در ریشه داشتند (شکل ۹). در این آزمایش اثر غلظت سرب بر میزان کلروفیل برگ، عرض برگ، طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی و ریشه و وزن خشک اندام هوایی و ریشه معنی‌دار نگردید.



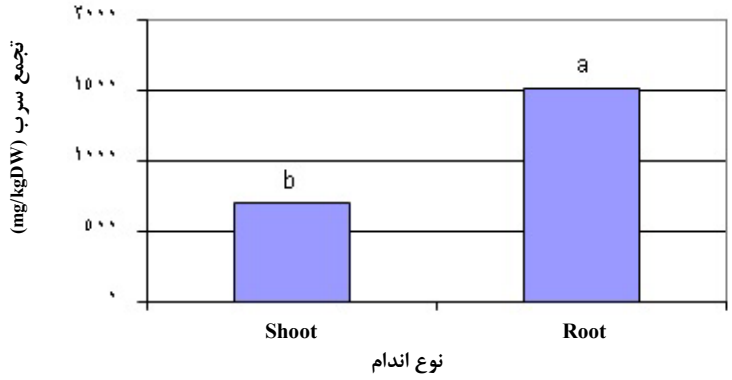
شکل ۶- اثر ساده جنس چمن در میزان تجمع سرب توسط سه نوع گیاه چمنی

(میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده **از** آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.)



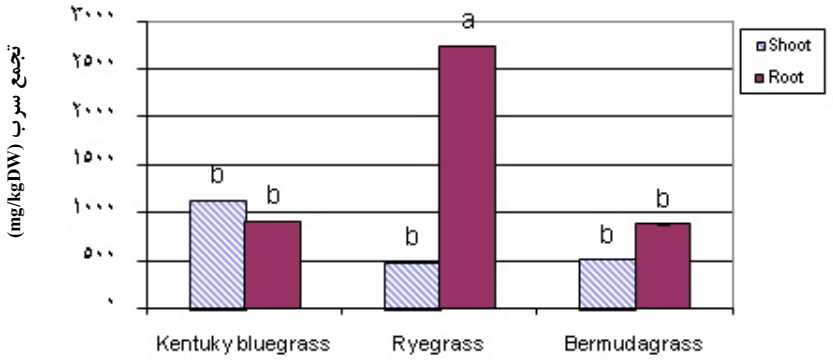
شکل ۷- اثر ساده غلظت‌های متفاوت نیترات سرب در میزان تجمع سرب توسط چمن

(میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.)



شکل ۸- اثر ساده اندام چمن در میزان تجمع سرب در حضور نیترات سرب

(میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.)



شکل ۹- اثر متقابل جنس و نوع اندام در میزان تجمع سرب در چمن

(میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار نیستند.)

بحث

عکس‌العمل گیاهان نسبت به شرایط محیطی با توجه به مرحله رشدی آنها بسیار متفاوت است. حساسیت کم برخی از گیاهان مانند سیلن و سویا به حضور یون‌های فلزاتی نظیر کادمیم و آلومینیوم در محیط رشد به محدودیت ریشه آنها در جذب یون‌ها یا سنتز یکسری ترکیبات کلات‌کننده مانند آنزیم‌ها و لیپیدها برمی‌گردد که این مساله موجب سم‌زدایی این یون‌ها در داخل سلول می‌شود (Silva et al., 2001; Knecht et al., 1994).

طبق نتایج این تحقیق با افزایش غلظت نیترات سرب در محیط از صفر الی ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر (Pb ۰-۱/۲ mM) درصد جوانه‌زنی کل و طول ساقه‌چه افزایش یافت و بعبارتی غلظت‌های پایین سرب محدودیتی در مرحله جوانه‌زنی در چمن نبود. مشابه با واکنش مثبت چمن در مرحله جوانه‌زنی به غلظت‌های سرب، Walter et al. (2006) با کشت بذرهای یولاف (*Avena sterilis*) بر روی کمپوست لجن فاضلاب که حاوی مقادیر بالایی از فلزات سنگین از جمله سرب بود مشاهده کردند که درصد جوانه‌زنی و طول ریشه یولاف نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. Bashmakov et al. (2005) نیز گزارش کردند که رشد دانهال ذرت (*Zea mays* L. cv. Krasnodarskij 167) در حضور فلزات نیکل، مس، روی و سرب در محدوده غلظت ۱-۵ mM افزایش یافت. محققین اثرات تحریک‌کنندگی فلز سنگینی مانند آلومینیوم را در رشد گیاهان به دلیل افزایش حلالیت‌پذیری و قابل دسترس قرار دادن سایر عناصر غذایی نظیر نیتروژن در اثر افزایش آسیمیلاسیون نیترات می‌دانند که امکان دارد سرب نیز دارای چنین ویژگی برای گیاهان باشد (Bojarczuk, 2004). در طی آزمایشی مشاهده شد که برخلاف سایر فلزات سنگین، سرب و روی باعث بازدارندگی کامل ریشه، کلئوپتیل و هیپوکوتیل در بذور خیار و گندم حتی در غلظت‌های بالا (۸ mM) نشد (Munzuroghlu & Geckil, 2002). همچنین Peralta et al. (2000) دریافتند فلز روی بالعکس نیکل، کروم، مس و کادمیم اثر معنی‌داری در کاهش جوانه‌زنی حتی در غلظت‌های ۴۰ میلی‌گرم در لیتر در یونجه (*Medicago sativa*) نداشت. همچنین روی، مس، کروم و نیکل در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر طول ساقه‌چه را ۷ الی ۶۰ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. ایشان عنوان کردند که این فلزات در غلظت‌های کم همانند ریزمغذی‌ها در گیاه یونجه عمل می‌نمایند. بذر مرحله‌ای از چرخه زندگی گیاه است که به خوبی در مقابل تنش‌های گوناگون گیاه را حفاظت می‌کند. اما بلافاصله پس از جذب آب و توسعه رشد رویشی، گیاه به تنش‌های محیطی بسیار حساس می‌شود. بر اساس گزارش‌هایی در مورد گیاهانی مانند آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*)، خردل سفید (*Sinapsis alba*)، علف هفت‌بند (*Fallopia convolvulus*)، گندم (*Triticum aestivum*) و خیار (*Cucumis sativus*) فلزات مس، سرب و روی اثرات سمیت چندانی در مرحله جوانه‌زنی گیاهان ندارند (Li et al., 2005; Munzuroghlu & Geckil, 2002). محققین واکنش متفاوت گیاهان در مرحله جوانه‌زنی بذر را نسبت به

عناصر بستگی به نوع پوشش‌های بذر دانسته‌اند. طی مطالعه‌ای در عکس‌العمل چند گونه گیاهی از خانواده گرامینه به غلظت‌های مختلف سرب در مرحله جوانه‌زنی، مشاهده شد که در بیشتر این گونه‌ها سرب اثر بازدارندگی معنی‌داری بر جذب آب در این مرحله ندارد. چنین نتیجه‌گیری می‌شود که پوشش‌های بذر نقش انتخابی در نفوذپذیری سرب دارند. Wierzbicka & Obidzinska (1989) نشان دادند که تفاوت در میزان نفوذپذیری پوسته بذر نسبت به سرب منجر به تفاوت در تحمل و بازدارندگی بذرهای گیاهان به حضور سرب می‌گردد.

در این تحقیق کاهش طول ریشه چمن در حضور غلظت‌های مختلف سرب مشاهده شد که چنین اثر بازدارنده‌ای نیز در ریشه گیاهان *Brassica pekinensis* (Xiong, 1998) و چمن *Lolium perenne*، (Wong & Bradshaw, 1982) گزارش شده است. به طور کلی میزان بازدارندگی غلظت‌های سرب در رشد ریشه چمن، بیشتر از ساقه بود و به همین دلیل محققین طول ریشه را به عنوان یک معیار برای تعیین توانایی تحمل به فلزات سنگین در گیاهان در نظر می‌گیرند (Xiong, 1998). اثرات بازدارندگی فلزات بر رشد ریشه، ساقه و برگ‌ها در بسیاری از گیاهان گزارش شده است، هر چند که پاسخ گیاه با توجه به گونه گیاهی متفاوت است (Peralta et al., 2000). مکانیسم مقاومت گیاهان به فلزات سنگین به صورت جدا کردن این فلزات سمی از مسیر متابولیکی اصلی‌شان و تجمع آنها در گیاه می‌باشد. به عنوان مثال دیواره سلول‌های ریشه به علت وجود بارهای منفی در آنها، و همچنین واکوئل سلول‌های ریشه از مراکز مهم ذخیره فلزات سنگین می‌باشند. به این ترتیب حرکت فلزات سنگین به قسمت‌های هوایی محدود می‌شود و ریشه‌ها به عنوان اولین مانع در حرکت این فلزات عمل می‌نمایند. به همین دلیل بازدارندگی در رشد قسمت‌های زیرزمینی در گیاهان نسبت به اندام‌های هوایی بیشتر مشاهده می‌شود (Bashmakov et al., 2005).

همانگونه که در بخش نتایج اشاره شد فاکتورهای رشدی چمن (وزن تر، وزن خشک، طول ریشه، طول ساقه، عرض برگ و میزان کلروفیل) تحت تأثیر غلظت‌های سرب قرار نگرفت. مشابه با چنین یافته هایی در گیاه گرمسیری Vetiver grass نیز با کاربرد سرب در خاک (۹۵/۹-۲۳/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) تأثیر معنی‌داری بر صفات فیزیولوژیکی نظیر میزان رشد و وزن خشک این گیاه علوفه ای نداشت (Roongtanakiat & Chairoj, 2001). در این آزمایش وزن تر و وزن خشک تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سرب در محیط قرار نگرفت که ممکن است به دلایل رسوب کردن و نامحلول شدن مقداری از سرب در خاک و در نتیجه نداشتن سمیت و اثر بازدارندگی در فاکتورهای رشدی برای چمن باشد. Begonia et al. (1998) نیز در خردل هندی (*Brassica Juncea* L. Czern) که به عنوان یک گیاه مدل در روش گیاه پالایی مطرح است، در حضور غلظت‌های (۱۰۰-۰ میلی‌گرم در لیتر) مختلف سرب تفاوت معنی‌داری در سطح برگ کل، وزن خشک و تر ریشه و ساقه نسبت به شاهد مشاهده نکردند.

میزان تجمع سرب در ریشه‌های چمن نسبت به اندام‌های هوایی در طی آزمایش در حدود ۲ برابر بود. این نتایج با یافته‌های زیادی از سایر محققین در گیاهانی نظیر *Cynodon dactylon*، (Yoon et al., 2006)، *Brassica junceai* (Begonia et al., 1998) *Brassica pekinensis* (Xiong, 1998)، *Eichhornia crassipes* (Tin Win et al., 2003) مشابهت داشت. تمایل شدید سرب در پیوند با مواد آلی و ذرات رس در خاک دلیلی بر نامحلول بودن و حرکت کم آن در خاک می‌باشد. اکثر گیاهانی که به عنوان تجمع‌کننده این فلز شناخته شده اند دارای توانایی نسبتاً کم انتقال این فلز از ریشه به سمت اندام‌های هوایی هستند و در بهترین رقم‌ها میزان انتقال سرب در حدود ۳۰٪ بوده است. از مهمترین دلایل تجمع بیشتر سرب در ریشه نسبت به اندام‌های هوایی می‌توان به حرکت آن در گیاه به صورت سیستم آپوپلاستی، به دنبال آن ممانعت حلقه کاسپاری، تحرک کم و در نتیجه رسوب سرب در دیواره‌های سلولی اندام ریشه نام برد (Jones et al., 1973; Verma & Dubey, 2003). مطالعات نشان داده افزایش انتقال سرب به اندام‌های هوایی در غلظت‌های زیاد با ایجاد شرایط کشت هیدروپونیک می‌تواند بهبود یابد (Begonia et al., 1998).

همچنین با افزایش میزان سرب در خاک میزان تجمع سرب در چمن افزایش یافت که با یافته‌های Roongtanakiat & Chairoj (2001) در گیاه *Vetiveria nemoralis*، Tin Win et al. (2003) در گیاه *Eichhornia crassipes*، Grytsyuk et al. (2006) در گیاهان بومی علوفه‌ای و Xiong (1998) در *Brassica pekinensis* مطابقت داشت.

تجمع فلزات در گیاهان بسیار متنوع می‌باشد (Alloway, 1990). در بین سه جنس مختلف چمن رایگرس بیشترین تجمع سرب را در اندام ریشه داشت. گزارش‌هایی مبنی بر مقاومت و تجمع در بین چمن‌ها از جمله *Agrostis tenuis*، *Festuca ovina*، *Deschampsia cespitosa* L. و *Festuca arundinacea* نسبت به فلزات سنگین وجود دارد (Cox, 1980; Qu et al., 2003) Cheng et al. (2007) نیز در گزارشی مواد گیاهی حاصل از سر زنی رایگرس رشد کرده بر روی کمپوست فاضلاب، حاوی ۲ تا ۳ برابر بیشتر میزان سرب نسبت به بستر خاکی بود. همچنان که اشاره شد برموداگرس در این آزمایش‌ها پتانسیل بالایی جهت پالایش سرب نداشت. در مطالعات Yoon et al. (2006) نیز غلظت سرب تجمع یافته در چمن برموداگرس که در خاک‌هایی با غلظت ۱۸۸۶ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب پرورش یافته بودند، در ریشه ۲۹۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و در اندام هوایی ۸۸ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک بود که این مقدار کم با نتایج این آزمایش مشابهت داشت.

رایگرس در کل تقریباً ۳۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک تجمع سرب را در اندام‌ها داشت (شکل ۶). شواهدی مبنی بر وجود قارچ‌های همزیست ریشه[1] در رایگرس که باعث افزایش جذب کادمیم، نیکل و روی می‌شود در دسترس است (Takács & Vörös, 2003). رایگرس دارای سرعت بالای جوانه‌زنی بذر و استقرار بهتر در صنعت چمن کاری می‌باشد (Pessarakli, 2008). مقاومت رایگرس به غلظت‌های بالای کلرید سدیم (۱۰۰۰۰ ppm) در ارتباط با صفاتی نظیر جوانه‌زنی و زنده‌مانی گیاهچه ها نیز گزارش شده است (Brilman, 2008). رایگرس در بین ۳ جنس چمن نیز زیست‌توده بیشتری تولید کرد (داده‌ها نشان داده نشده است). به طور کلی پتانسیل بالای پالایش سرب توسط این جنس می‌تواند با ویژگی‌هایی نظیر وجود قارچ‌های همزیست ریشه، سرعت بالای جوانه‌زنی و استقرار و تولید زیست‌توده بالا در رایگرس توجیه گردد.

نتیجه‌گیری کلی

بررسی کاربرد سرب در مرحله جوانه‌زنی و استقرار چمن بیانگر این مساله بود که این گیاه پوششی پتانسیل مقاومت و تجمع سرب را در اندام‌ها دارد ولی میزان تجمع در بین جنس‌ها و اندام‌ها متفاوت است. در کل بین سه جنس مختلف چمن، رایگرس با ۴۷۳/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و کنتاکی بلوگرس با ۱۱۲۱/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در اندام هوایی داشتند. درحالی که برموداگرس ۸۷۷/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و رایگرس با ۲۷۴۳/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک به ترتیب کمترین و بیشترین تجمع سرب را در ریشه نشان دادند. ارزیابی تحمل و توانایی پالایندگی چمن بویژه رایگرس در مرحله اولیه جوانه‌زنی و استقرار نشان داد که این گیاه می‌تواند در تکنیک گیاه پالایی به عنوان یک گیاه دو منظوره در مکان‌های آلوده به سرب نظیر مناطق شهری، شهرک‌های صنعتی و مناطق مسکونی نزدیک به معادن و حاشیه بزرگراه‌ها معرفی گردد. استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیکی روی این گیاه احتمالاً می‌تواند توانایی پالایش آن را افزایش دهد. با این وجود هنوز چگونگی مکانیزم جذب، تجمع و انتقال سرب در چمن‌ها ناشناخته مانده است. شناسایی ارقامی از چمن که قابلیت انتقال فلزات را به اندام‌های هوایی داشته باشند امکان این امر را میسر می‌نماید که چمن با داشتن زیست‌توده بالا همانند *Brassica juncea*، یک گیاه مناسب برای گیاه پالایی شناخته شود. در این صورت با حذف و یا حتی سوزاندن ضایعات حاصل از سرزنی چمن به دفعات می‌توان در طی چند مرحله آلودگیهای فلزی را کاهش داد. نتایج این تحقیق به عنوان پیش‌زمینه‌ای در جهت پالایش فلز سرب توسط چمن‌ها، می‌تواند در آزمایش‌های آتی مورد استفاده قرار گیرد.

1. Mycorrhizal Fungi

REFERENCES

1. Alloway, B. J. (1990). *Heavy metals in soils*. John Wiley and Sons, Inc. New York, ISBN 0470215984.
2. Baker, A. J. M. & Brooks, R. R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements- a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 81-126.
3. Bashmakov, D. I., Lukatkin, A. S., Revin, V. V., Duchovskis, P., Brazaitytë, A. & Baranauskis, K. (2005). Growth of maiz seedlings affected by different concentrations of heavy metals. *Ekologija*, 3, 22-27.
4. Begonia, G. B., Davis, C. D., Begonia, M. F. T. & Gray, C. N. (1998). Growth responses of Indian mustard (*Brassica juncea*) and its phytoextraction of lead from a contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 38-43.
5. Bojarczuk, K. (2004). Effect of toxic metals on the development of poplar (*Populus tremula* L.×*P. alba* L.) cultured *in vitro*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13, 115-120.
6. Brilman, L. (2008). Salt tolerance of perennial ryegrass varieties. Seed research of Oregon. www.sroseed.com.
7. Cheng, H., Xu, W., Zhao, J. L. Q., He, Y. & Chen, G. (2007). Application of composted sewage sludge (CSS) as a soil amendment for turfgrass growth. *Ecological Engineering*, 29, 96-104.
8. Cox, R. M. (1980). Multiple metal tolerances in the grass *Deschampsia cespitosa* L. Beauv. from the sudbury smelting area. *New Phytolgist*, 84, 631-647.
9. Grytsyuk, N., Arapis, G., Perepelyatnikova, L., Ivanova, T. & Vynogradśka, V. (2006). Heavy metals effects on forage crops yield and estimation of elements accumulation in plants as affected by soil. *Science of the Total Environment*, 354, 224-231.
10. Huang, J. W., Chen, J., Berti, W. R. & Cunningham, S. D. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, 31, 800-805.
11. Jones, L. H. P., Jarvis, S. C. & Cowling, D. W. (1973). Lead uptake from soils by perennial ryegrass and its relation to the supply of an essential element (sulfur). *Plant & Soil*, 38, 605-619.
12. Knasmuller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., God, R. & Kundi, M. (1998). Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research*, 420, 37-48.
13. Knecht De, J. A., Dillen Van, M., Koevoets, P. L. M., Schat, H., Verkleij, J. A. C. & Ernst, W. H. O. (1994). Phytochelatins in cadmium-sensetive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Physiologiae*, 104, 255-261.
14. Kramer, U. & Chardonnens, A. N. (2001). The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55, 661-672.
15. Lasat, M. M., Fuhrnmann, M., Ebbs, S. D., Cornish, J. E. & Kochian, L. V. (1998). Phytoremediation of a radiocesium contaminated soil: evaluation of cesium-137. *Journal of Environmental Quality*, 27, 165-169.
16. Li, W., Khan, M. A., Yamaguchi, S. & Kamiya, Y. (2005). Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*, 46, 45-50.
17. McGrath, S. P. & Zhao, F. J. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 277-282.
18. Munzuroghlu, O. & Geckil, H. (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and cloeptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 203-213.
19. Peralta, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E. & Parsons, J. G. (2000). Study of the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfafa plant (*Medicago sativa*) growth in solid media. In: Proceedings of *the Conference on Hazardous Waste Research*. CO Pp. 135-140
20. Pessarakli, M. (2008). *Turfgrass management and physiology*. CRC press.
21. Prasad, M. N. V. (2004). Heavy metal stress in plants. Springer Verlag Berlin Heidelberg.
22. Qu, R. L., Li, D., Du, R. & Qu, R. (2003). Lead uptake by roots of four turfgrass species in hydroponic cultures. *HortScience*, 38, 623-6290.
23. Reeves, R. D. & Baker, A. J. M. (2000). Metal-accumulating plants. In: I. Raskin and B.D. Ensley (Eds.). *Phytoremediation of toxic metals*. (Pp. 193–229). John Wiley and Sons, New York, NY, USA. 304 pp.
24. Roongtanakiat, N. & Chairoj, P. (2001). Uptake Potential of some heavy metals by vetivergrass. *Journal of Natural Science*, 35, 46-50.
25. Singh, O. V., Labana, S., Pandey, G., Budhiraja, R. R. & Jain, R. K. (2003). Phytoremediation: an

overview of metallic ion decontamination from soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61, 405-412.
26. Silva, I. R., Smyth, T. J., Raper, C. D., Carter, T. E. & Rufty, T. W. (2001). Differential aluminum tolerance in soybean: An evaluation of the role of organic acids. *Physiologiae Plantarum*, 112, 200-210.
27. Takács, T. & Vörös, I. (2003). Effect of metal non-adapted arbuscular mycorrhizal fungi on Cd, Ni and Zn uptake by ryegrass. *Acta Agronomica Academiae Scientiarum Hungarieae*, 51, 347-354.
28. Tin Win, D., Myint Than, M. & Tun, S. (2003). Lead removal from industrial waters by water hyacinth. *Assumption University Journal of Technology*, 6, 187-192.
29. Verma, S. & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164, 645-655.
30. Walter, I., Martinez, F. & Cala, V. (2006). Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental Pollution*, 139, 507-514.
31. Wierzbicka, M. & Obidzinska, J. (1989). The effect of lead on seed imbibitions and germination in different plant species. *Plant Science*, 137, 155-171.
32. Wong, M. H. & Bradshaw, A. D. (1982). A comparison of the toxicity of heavy metals, using root elongation of ryegrass, *Lolium perenne*. *New Phytology*, 91, 255-261.
33. Xiong, Z. T. (1998). Lead uptake and effects on seed germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 285-291.
34. Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q. & Ma, L. Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the total environment*, 368, 456-464.