فصلنامه علمی – پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران
جلد ۲۵ شماره ۱، صفحه ۱۴۸-۱۳۷، (۱۳۹۶)

روند تغییرات حفاظت‌کننده‌های اسمزی و پارامترهای فیزیولوژی سه گونه اکالیپتوس در پاسخ به تنش سرب

آناهیتا شریعت [۱*]، محمدحسن عصاره [۲] و عباس قمری‌زارع [۳]

۱*- نویسنده مسئول، دکترای اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
پست الکترونیک: shariat@rifr-ac.ir
۲- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۱۰

چکیده

پژوهش پیش‌رو به‌منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی نونهال‌های سه گونه اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.، *E. microtheca* F. Muell و *E. occidentalis* Endl.) در پاسخ به سمیت سرب انجام شد. بذرها در گلدان‌های حاوی سنگریزه کشت شدند و توسط محلول غذایی آبیاری شدند. پس از گذشت ۱۰ هفته، نونهال‌های اکالیپتوس در معرض تیمارهای نیترات سرب (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) به مدت ۱۰ ماه قرار گرفتند و پس از آن با استفاده از دستگاه ICP-OES غلظت سرب در اندام‌های ریشه، ساقه و برگ نونهال‌ها اندازه‌گیری شد. روند انباشت سرب در برگ به‌صورت *E. occidentalis* > *E. camaldulensis* > *E. microtheca* بود. غلظت سرب در بافت ریشه بیشتر از برگ و ساقه بود و در اغلب موارد در بافت ساقه نیز کمتر از برگ بود. در هر سه گونه با افزایش غلظت سرب، غلظت این عنصر در بافت‌های گیاه نیز افزایش یافت. با افزایش غلظت سرب، در هر سه گونه محتوای پرولین و قندهای محلول افزایش یافت و در مقابل محتوای رنگیزه‌ها، محتوای نسبی آب برگ و سطح ویژه برگ کاهش یافت. این نتایج بیان‌گر آن بود که اکالیپتوس دارای مکانیسم‌های مؤثر در برابر سمیت سرب ازجمله تجمع حفاظت‌کننده‌های اسمزی بود. در میان سه گونه مورد بررسی، بیشترین غلظت سرب تجمع‌یافته در برگ و ساقه *E. occidentalis* مشاهده شد که به‌ترتیب ۲/۳۸ و ۱/۸۲ برابر غلظت سرب تجمع‌یافته در برگ *E.camaldulensis* و *E. microtheca* بود، اگرچه حداقل مقدار شاخص تحمل تنش (۰/۷۶) در *E. occidentalis* مشاهده شد. در کل، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اکالیپتوس را به‌عنوان یک گونه مقاوم به فلز سنگین سرب برای گیاه‌پالایی خاک‌های آلوده به سرب درنظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: پرولین، رنگیزه‌های گیاهی، سمیت فلزات سنگین، قندهای محلول، گیاه‌پالایی.

مقدمه

فلزات سنگین یکی از پرمخاطره‌ترین انواع آلودگی محسوب می‌شوند که توزیع گسترده آنها، سمیت مداوم و تجمع در زنجیره مواد غذایی، از دلایل مشکل‌آفرین بودن آنها است (Douay *et al.*, 2013). استخراج، تصفیه و ذوب فلزات غیرآهنی یکی از مهمترین منابع تولید چنین آلاینده‌هایی

محسوب می‌شود (Amini *et al*., 2005). فلزات آزادشده، ابتدا در خاک و یا در مخازن محیط زیستی دیگر تجمع می‌یابند و سپس توسط آب، هوا و یا موجودات جابه‌جا می‌شوند. سپس از طریق غذا و یا مصرف مستقیم وارد بدن موجودات ازجمله انسان می‌شوند که این امر می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامتی محسوب شود (Pelfrêne *et al*., 2013). در میان فلزات سنگین، سرب (Pb) یکی از آلاینده‌ترین عامل‌های محیط زیست است. آلودگی سرب در هوا، آب و خاک کشاورزی عواقب نگران‌کننده محیط زیستی را به‌دنبال دارد. منابع اصلی آلودگی سرب، استخراج و ذوب سنگ معدن سرب، پساب‌های صنعتی، کودها، آفت‌کش‌ها و لجن فاضلاب شهری است (Malar *et al*., 2014). در گیاهان، سرب بر فعالیت چندین مسیر متابولیکی سلول تأثیر می‌گذارد. مسمومیت با سرب منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی بذر، کاهش رشد، افت زی‌توده، کاهش وزن ریشه و اندام هوایی، اختلال در مواد غذایی معدنی، کاهش در تقسیم سلولی و مهار فتوسنتز می‌شود (Ekmekci *et al*., 2009). طبق گزارش WHO (World Health Organization) محدوده مجاز عنصر سرب در گیاهان دو میلی‌گرم بر کیلوگرم و در آب ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر است (Nazir *et al*., 2015). حد بحرانی سرب در گیاهان نیز از ۳۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (Levy *et al*., 1999). براساس استاندارد کشور سوئیس، حد مجاز سرب موجود در خاک ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Amini *et al*., 2005) و حد بحرانی آن ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Rosen, 2002).

در فن‌آوری گیاه‌پالایی، گیاهان انباشت‌کننده برای پالایش مناطق آلوده به فلزات سنگین استفاده می‌شوند، به‌طوری‌که این گیاهان می‌توانند مقادیر زیادی از یک فلز مشخص را جذب کنند، درحالی‌که این مقادیر برای موجودات دیگر سمی است (Shariat & Assareh, 2008). اکالیپتوس‌های کشت‌شده در مناطق بسیار آلوده کشور زامبیا، بیان‌گر جذب ۱۱/۵ تا ۶۱/۵ میلی‌گرم بر گرم عنصر سرب در اندام هوایی بودند (Ncube & Phiri, 2015). در پژوهش دیگری از لجن آلوده به‌منظور بررسی گیاه‌پالایی *E. camaldulensis* استفاده شد و این نتیجه به‌دست آمد که در طول ۷۰ روز، میزان جذب سرب به بیشتر از ۴۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش یافت (Fine *et al*., 2014). تاکنون گیاه‌پالایی عنصر سرب در گونه‌های درختی دیگر مانند چنار، نارون، زبان‌گنجشک، سرو خمره‌ای و کاج سیاه نیز بررسی شده است (Shabanian & Cheraghi, 2013).

پژوهش پیش‌رو با هدف بررسی برخی شاخص‌های فیزیولوژیک مانند محتوای پرولین، قندهای محلول، رنگیزه‌ها، محتوای نسبی آب برگ و سطح ویژه برگ در پاسخ به تنش سرب، بررسی و مقایسه انباشت فلز سنگین سرب در اندام‌های مختلف اکالیپتوس و نیز کارایی تنظیم‌کننده‌های اسمزی انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، کشت و اعمال تیمارهای سرب

برای انجام پژوهش پیش‌رو، بذرهای سه گونه اکالیپتوس (*E. camaldulensis* Dehnh. و *E. microtheca* F. Muell و *E. occidentalis* Endl) از شرکت Kim Seed Co., Wangara, Australia تهیه شد. بذرها درون سنگریزه‌های مرمر (Marble chips) با اندازه‌های یک تا دو میلی‌متر در داخل اتاقک رشد با دمای روزانه ۲۳ درجه سانتی‌گراد (۱۲ ساعت) و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد (۱۲ ساعت) کشت شدند. گلدان‌ها نیز با استفاده از آب ژاول ۲۰ درصد، ضدعفونی شدند. پس از گذشت ۱۰ هفته، زمانی‌که ارتفاع نونهال‌ها به ۱۵ سانتی‌متر رسید، تیمارهای سرب با استفاده از نمک نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آماده و به محلول غذایی اضافه شدند (Moor, 1960). سپس در قالب آزمون فاکتوریل

براساس طرح کامل تصادفی در پنج تکرار (هر گلدان به‌عنوان یک تکرار درنظر گرفته شد) اعمال شدند. پس از گذشت ۱۰ ماه از اعمال تیمارها، صفات مختلف فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژی

به‌منظور اندازه‌گیری نسبت وزن برگی (LWR: Leaf weight ratio) از رابطه ۱ استفاده شد (Hunt, 1990). درحقیقت، LWR بیان‌گر اختصاص یافتن ماده خشک به برگ‌ها در مقایسه با کل گیاه است.

$$LWR = \frac{LDw}{W} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن: LDw بیان‌گر ماده خشک برگ و W بیان‌گر وزن خشک کل گیاه است.

محتوای نسبی آب برگ (RWC: Relative water content) از طریق قرار دادن ۰/۵ گرم برگ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت شش ساعت و با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد (Beadle, 1993).

$$RWC = \frac{(FM - DM)}{(TM - DM)} * 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

در رابطه ۲، FM، DM و TM به‌ترتیب وزن برگ تازه، وزن خشک و وزن آماس برگ است.

موجودی آب هر واحد سطح برگ (LWCA: Leaf water content area) و سطح ویژه برگی (SLA: Specific leaf area) نیز با استفاده از رابطه‌های ۳ و ۴ به‌دست آمد (Watson, 1952).

$$LWCA = \frac{FM_L - DM_L}{LA} \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$SLA = \frac{LA}{DM_L} \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در آنها FM_L، DM_L و LA به‌ترتیب وزن تر برگ، وزن خشک برگ و سطح برگ هستند.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های گیاهی با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول از روش آنترون استفاده شد (Irigoyen *et al*., 1992). محتوای پرولین نیز براساس وزن تر برگ و با استفاده از روش نین‌هیدرین‌اسید اندازه‌گیری شد (Bates *et al*., 1973). اندازه‌گیری غلظت سرب در اندام‌های برگ، ساقه و ریشه با استفاده از روش اکسیداسیون تر انجام شد (Westerman, 1990) سپس با استفاده از دستگاه ICP (ICP-OES Integra XL, GBC, Australia) غلظت عنصر سرب تعیین شد. برای اندازه‌گیری شاخص تحمل تنش (STI: Stress tolerance index) سرب سه گونه اکالیپتوس از رابطه ۵ استفاده شد (Fernandez, 1992). این شاخص نسبت و معیاری برای مقایسه وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کل گیاه تحت تنش نسبت به گیاه تیمار شاهد است.

$$STI = \frac{(Yp)(Ys)}{(\overline{Yp})^2} \quad \text{رابطه (۵)}$$

که در آن: Yp وزن ماده خشک در شرایط بدون تنش، Ys وزن ماده خشک در شرایط تنش و $\overline{Yp}$ میانگین وزن ماده خشک در شرایط بدون تنش (میانگین در میان تکرارهای بدون تنش) است. برای اندازه‌گیری تعداد و طول و عرض روزنه نیز از روش Voleníková و Tichá (۲۰۰۱) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی، بعد از آزمون نرمال بودن با استفاده از Shapiro-Wilk و بررسی همگنی واریانس‌ها داده‌ها با استفاده از آزمون Levene، در قالب آزمایش فاکتوریل براساس طرح کامل تصادفی در پنج تکرار تجزیه و تحلیل شد. به‌منظور بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌های شاخص‌های اندازه‌گیری در تیمارهای مختلف، از آزمون دانکن در سطوح اطمینان ۹۹ و ۹۵ درصد استفاده شد. لازم به‌ذکر است که برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای SPSS 17،Minitab 17 و Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

اثر سطوح مختلف سرب بر صفات فیزیولوژیکی سه گونه اکالیپتوس

قندهای محلول و پرولین

تجزیه واریانس اثرات گونه، غلظت‌های مختلف سرب و ترکیب گونه و تیمار سرب بر صفات فیزیولوژیک سه گونه اکالیپتوس در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میانگین مربعات به‌دست آمده از تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف سرب بر صفات فیزیولوژیک سه گونه اکالیپتوس

منابع تغییر	گونه	تیمارسرب	گونه × تیمارسرب	خطا	CV%
پرولین ($\mu g g^{-1}$f.w.)	۲۷۴**	۳۵**	۱۱**	۱/۸۳۶	۱۶/۵
قندهای محلول ($\mu g g^{-1}$d.w.)	۳۸۵۱۹۲**	۸۹۰۹۶۶**	۱۸۸۴۰۷**	۱۴۹۹۰/۱۳	۱۳/۷
کلروفیل کل ($mg g^{-1}$f.w.)	۱/۳۹**	۰/۶**	۰/۰۴^{ns}	۰/۰۲۸	۵
کاروتنوئید ($mg g^{-1}$f.w.)	۲/۲۴*	۵/۹۸**	۱/۵۱**	۰/۴۱	۷/۴
محتوای نسبی آب برگ (%)	۴۸/۹**	۵۵/۵**	۰/۸^{ns}	۲/۷	۱/۸
سطح ویژه برگی	۲۱۷۴**	۴۲/۶^{ns}	۲/۲^{ns}	۱۴/۷۷۱	۸/۶
LWCA	۰/۰۵**	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۴	۲۵/۶
LWR	۰/۰۰۶*	۰/۰۱**	۰/۰۰۵*	۰/۰۰۱	۵/۲
STI	۰/۰۵۲**	۰/۱۳۱**	۰/۰۲۳**	۰/۰۰۵	۸/۵
تعداد روزنه زیرین برگ	۲۸۲۶۴۵۸**	۲۷۲۹۱^{ns}	۵۳۴۷^{ns}	۲۱۶۶۶	۹
طول روزنه زیرین (mm)	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۱۵۴^{ns}	۰/۰۹۵^{ns}	۰/۰۸۸	۱۰/۶
تعداد روزنه زبرین برگ	۶۸۳۰۲۷۷**	۵۴۶۲^{ns}	۵۵۴۶۲^{ns}	۴۵۵۵۵	۱۱
طول روزنه زبرین (mm)	۱/۱۷**	۰/۲۷*	۰/۲۲*	۰/۰۶۲	۸/۶
سرب برگ ($mg kg^{-1}$D.W.)	۱/۹۴**	۷/۸۲**	۰/۴۹**	۰/۱۲	۱۶/۵
سرب ریشه ($mg kg^{-1}$D.W.)	۰/۹۴۲**	۸/۵۳**	۰/۶۴**	۰/۰۸۵	۱۳/۸
سرب ساقه ($mg kg^{-1}$D.W.)	۱/۲۱**	۸/۶۱**	۰/۶۹**	۰/۰۳۸	۹/۲

**معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ *معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد؛ ^{ns}غیرمعنی‌دار

ازنظر مقدار تنظیم‌کننده‌های اسمزی (قندهای محلول و پرولین) تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین گونه‌ها، تیمارهای سرب و اثرات متقابل گونه و تیمار سرب مشاهده شد. بدین‌معنی که سه گونه اکالیپتوس در پاسخ به سطوح مختلف تنش سرب روند یکسانی ازنظر افزایش پرولین و قندهای محلول نداشتند. مقایسه میانگین اثرات اصلی دو فاکتور گونه و غلظت‌های مختلف سرب در جدول‌های ۲ و ۳ ارایه شده است. مقایسه مقدار پرولین در هر سه گونه نیز بیان‌گر آن بود که مقدار این اسید آمینه در *E. camaldulensis* بسیار بیشتر (p <۰/۰۱) از دو گونه دیگر بود (جدول ۳). اثر غلظت‌های مختلف تنش سرب بر میزان قندهای محلول در سه گونه نیز معنی‌دار بود، به این ترتیب که بیشترین میزان قند تولیدشده مربوط به *E. microtheca* در غلظت ۱۰۰ mM مشاهده شد (۱۳۴۰ $\mu gg^{-1}d.w.$) (شکل ۱). لازم به‌ذکر است که به‌منظور درک بهتر روند تغییرات اثرات متقابل در شکل ۱، فقط صفاتی که اثر متقابل گونه در تیمار معنی‌دار شده بود، ارایه شدند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی فاکتور غلظت‌های سرب بر صفات فیزیولوژیک گونه‌های مورد مطالعه به روش دانکن (میانگین± انحراف معیار، n=۵)

صفت	تیمار ($mg\ l^{-1}$)			
	صفر	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
پرولین ($\mu gg^{-1}f.w.$)	۵/۴ ± ۱/۱۵^{c}	۸/۵۸ ± ۱/۶۹^{b}	۱۰/۰۲ ± ۱/۶۳^{a}	۸/۷۶ ± ۱/۵۱^{b}
قندهای محلول ($\mu gg^{-1}d.w.$)	۷۸۶/۹۲ ± ۴۵/۹۵^{c}	۵۴۴/۲۷ ± ۳۵/۷۶^{d}	۹۶۰/۵۷ ± ۱۱۸/۴۶^{b}	۱۲۹۲/۵ ± ۱۱۸/۲۱^{a}
کلروفیل کل ($mgg^{-1}f.w.$)	۳/۶۹ ± ۰/۱۴^{a}	۳/۳۵ ± ۰/۱۱^{b}	۳/۲۳ ± ۰/۱۲^{bc}	۳/۰۸ ± ۰/۰۸^{c}
کاروتنوئید ($mgg^{-1}f.w.$)	۹/۸۳ ± ۰/۳۳^{a}	۸/۳۹ ± ۰/۳۸^{b}	۸/۳ ± ۰/۱۹^{b}	۸/۰۱ ± ۰/۲^{b}
محتوای نسبی آب برگ (%)	۹۵/۴۱ ± ۰/۹۳^{a}	۹۳/۶ ± ۰/۷۳^{b}	۹۱ ± ۰/۷۳ ^{c}	۸۹/۹۳ ± ۰/۶۳^{c}
سطح ویژه برگی	۴۷/۲۶ ± ۴/۰۹^{a}	۴۴/۸۳ ± ۳/۷۲^{ab}	۴۴/۶۴ ± ۴/۱۸^{ab}	۴۱/۹۳ ± ۴/۱۸^{b}
LWR	۰/۵۶ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۶۳ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۶۴ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۶۱ ± ۰/۰۱^{a}
طول روزنه زبرین (mm)	۳/۱۳ ± ۰/۲۱^{a}	۲/۸۱ ± ۰/۰۸^{ab}	۲/۹۴ ± ۰/۱۱^{b}	۲/۷۳ ± ۰/۱^{b}
سرب ساقه ($mgkg^{-1}D.W.$)	۷/۲ ± ۱/۲۷^{d}	۱۰۸/۴۲ ± ۱۳/۳۷^{c}	۱۵۲/۷۴ ± ۲۲/۷۵^{b}	۲۳۱/۸۷ ± ۲۷/۹۸^{a}
سرب ریشه ($mgkg^{-1}D.W.$)	۱۰/۹۱ ± ۲/۱۳^{d}	۱,۹۴۴/۳۳ ± ۲۶۶/۱^{c}	۳۱۸۳ ± ۲۲۵/۲^{b}	۴۵۲۸/۶۷ ± ۴۵۹/۵^{a}
سرب برگ ($mgkg^{-1}D.W.$)	۷/۴ ± ۱/۸۳^{d}	۱۴۲/۰۴ ± ۱۲/۳۳^{c}	۲۷۴/۷۸ ± ۴۲/۷۳^{b}	۵۱۶/۸۷ ± ۷۰/۲۲^{a}

حروف انگلیسی متفاوت در ردیف، اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد را نشان می‌دهد.

رنگیزه‌های گیاهی

از نظر مقدار رنگیزه‌های گیاهی (کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) نیز تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین گونه‌ها و سطوح تیماری مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات اصلی دو فاکتور گونه و غلظت‌های مختلف سرب در جدول‌های ۲ و ۳ ارایه شده است. اثرات

متقابل گونه در تیمار سرب نیز در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱ و شکل ۱). مقایسه تیمار شاهد در سه گونه بیان‌گر آن بود که مقدار کلروفیل در *E. occidentalis* نسبت به دو گونه دیگر بیشتر بود و بعد از اعمال تنش نیز ۲۲ درصد کاهش در میزان کلروفیل کل مشاهده شد. درحالی‌که در *E. camaldulensis* و *E. microtheca* به‌ترتیب ۱۶ و ۱۰ درصد کاهش کلروفیل مشاهده شد. روند تغییرات مقدار کاروتنوئیدها در شکل ۱- ج بیان‌گر آن بود که در *E. occidentalis* با افزایش غلظت سرب از غلظت کاروتنوئید کاسته شد، درحالی‌که در مورد دو گونه دیگر روند مشخصی وجود نداشت.

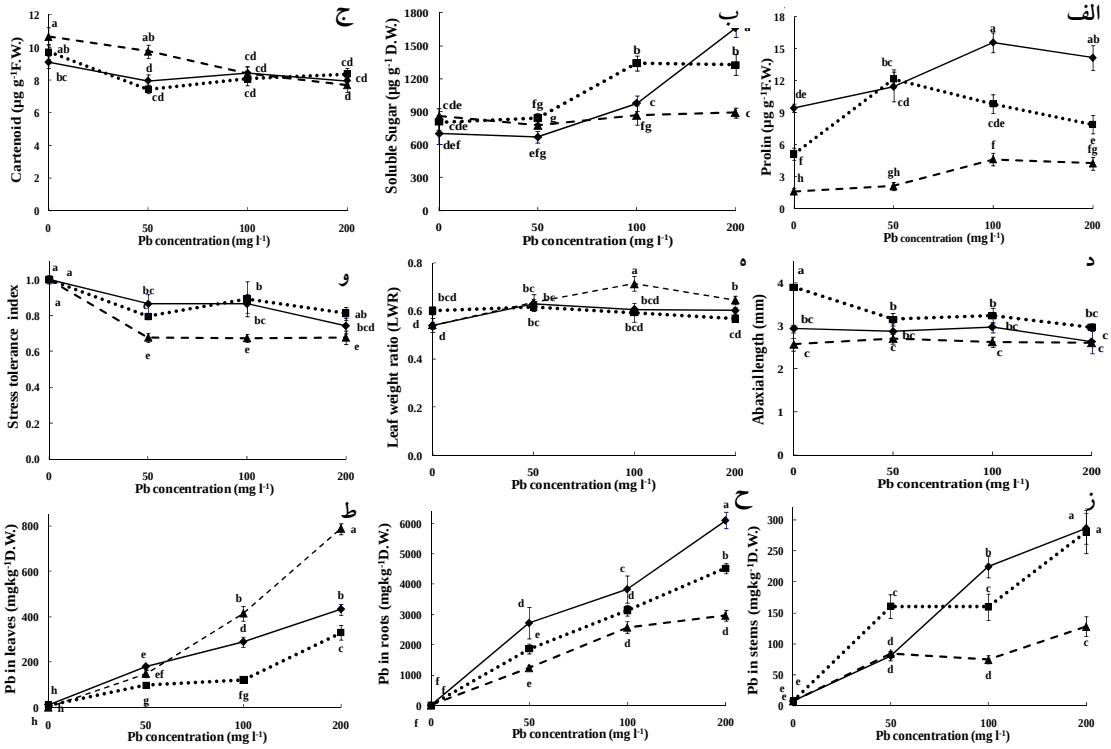
شاخص‌های روابط آبی گیاه

ازنظر محتوای نسبی آب برگ، اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد میان گونه‌ها و تیمارها مشاهده شد (جدول‌های ۱، ۲ و ۳)، اگرچه اثرات متقابل در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۱). افزایش غلظت سرب منجر به کاهش معنی‌دار مقدار محتوای نسبی آب برگ در هر سه گونه شد (جدول ۲). به‌عبارت دیگر، روند تغییرات در *E. camaldulensis*، *E. microtheca* و *E. occidentalis* به‌طور کامل مشابه با یکدیگر بود. کاهش محتوای نسبی آب برگ در میان تیمارهای غلظتی سرب نیز تفاوت معنی‌داری را در سطح اطمینان ۹۹ درصد نشان داد (جدول ۲). در مورد موجودی آب هر واحد سطح برگ (LWCA) نیز تنها میان گونه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳) و از نظر غلظت‌های مختلف سرب و اثر متقابل میان گونه در تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی فاکتور گونه بر صفات فیزیولوژیک تحت تنش سرب (میانگین± انحراف معیار، n=۵)

صفت	گونه		
	E. camaldulensis	*E. microtheca*	*E. occidentalis*
پرولین ($\mu gg^{-1}f.w.$)	۱۲/۶۶ ± ۰/۸۵^{a}	۸/۷۶ ± ۰/۸۵^{b}	۳/۱۴ ± ۰/۴۲^{c}
قندهای محلول ($\mu gg^{-1}d.w.$)	۹۹۶/۱۷ ± ۱۲۶/۲^{a}	۱۰۰۲/۸ ± ۱۰۷/۷۵^{a}	۶۸۹/۲۲ ± ۶۳/۲۷^{b}
کلروفیل کل ($mgg^{-1}f.w.$)	۳/۲۱ ± ۰/۰۷^{b}	۳/۰۸ ± ۰/۰۶^{b}	۳/۷۲ ± ۰/۱۱^{a}
کاروتنوئید ($mgg^{-1}f.w.$)	۸/۳۶ ± ۰/۲^{b}	۸/۴۱ ± ۰/۲۹^{b}	۹/۱۳ ± ۰/۳۹^{a}
محتوای نسبی آب برگ (%)	۹۴/۸۲ ± ۰/۷۹^{a}	۹۱/۴۲ ± ۰/۸۵^{b}	۹۱/۲۳ ± ۰/۶۷^{b}
سطح ویژه برگی	۵۸/۸ ± ۱/۴۲^{a}	۴۳/۲ ± ۰/۸۸^{b}	۳۲ ± ۰/۹۸^{c}
LWCA	۰/۱۳ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۱۶ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۲۵ ± ۰/۰۲^{a}
LWR	۰/۶ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۶ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۶۳ ± ۰/۰۲^{a}
STI	۰/۸۷ ± ۰/۰۴^{a}	۰/۸۵ ± ۰/۰۶^{ab}	۰/۷۶ ± ۰/۰۲^{b}
طول روزنه زبرین (mm)	۱/۵۳ ± ۰/۱۴^{a}	۱/۵۶ ± ۰/۱۳^{a}	۰/۶۷ ± ۰/۰۹^{b}
سرب ساقه ($mgkg^{-1}D.W.$)	۱۰۷۹/۱۷ ± ۲۷/۸^{b}	۱۸۷۵ ± ۴۲/۸^{a}	۱,۹۵۸/۳۳ ± ۴۶/۸۰^{a}
سرب ریشه ($mgkg^{-1}D.W.$)	۲۲۰۸/۳۳ ± ۴۳/۴^{b}	۲۵۱۶/۶۷ ± ۸۵/۳^{a}	۱۰۸۳/۳۳ ± ۴۲/۳۴^{c}
سرب برگ ($mgkg^{-1}D.W.$)	۲/۸۵ ± ۰/۰۹^{b}	۳/۲۴ ± ۰/۱۳^{a}	۲/۶۲ ± ۰/۰۵^{c}

حروف انگلیسی متفاوت در ردیف، اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۱- روند تغییرات حفاظت‌کننده‌های اسمزی پرولین (الف)، قندهای محلول (ب)، کاروتنوئید (ج)، طول روزنه زبرین (د)، نسبت وزن برگی (**LWR**) (ه) شاخص تحمل تنش (و) مقدار سرب در ساقه (ز) ریشه (ح) و برگ (ط) در پاسخ به تنش سرب در سه گونه اکالیپتوس

نسبت وزن برگی (**LWR**) و سطح ویژه برگی (**SLA**) و صفات روزنه‌ای

ازنظر نسبت وزن برگی افزایش معنی‌داری در پاسخ به تنش سرب در *E. camaldulensis* و *E. occidentalis* مشاهده شد، درحالی‌که در *E. microtheca* تغییرات معنی‌داری دیده نشد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۱). در *E. camaldulensis* میزان افزایش ۱۰ درصدی مشاهده شد، درحالی‌که در *E. occidentalis* مقدار این شاخص تا پنج‌برابر شاهد افزایش یافت. با توجه به این‌که سطح ویژه برگی به‌دست‌آمده از تقسیم سطح برگ بر وزن خشک برگ است، معنی‌داری این شاخص مربوط به تفاوت بین‌گونه‌ای (جدول ۳) و نیز غلظت‌های مختلف سرب (جدول ۲) بود.

شاخص تحمل تنش (**STI**)

ازنظر شاخص تحمل تنش اعمال‌شده، تفاوت معنی‌داری میان گونه‌ها و اثرات متقابل مشاهده شد ($p < ۰/۰۱$)؛ البته تفاوت معنی‌داری میان غلظت‌های مختلف سرب مشاهده نشد (جدول ۱). مقایسه این شاخص در سه گونه بیان‌گر آن بود که با افزایش غلظت سرب در *E. camaldulensis* و *E. occidentalis* میزان تحمل کاهش یافت و مقدار شاخص به ۰/۷۴ و ۰/۶۷ رسید، درحالی‌که *E. microtheca* روند خاصی به افزایش غلظت سرب نشان نداد و در بیشترین غلظت سرب مقدار این شاخص ۰/۸۱ بود که حداقل هفت درصد بیشتر از دو گونه دیگر بود (شکل ۱). تنها صفت روزنه‌ای که متأثر از غلظت‌های سرب بود، طول روزنه زبرین

برگ بود که همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، با افزایش غلظت سرب طول روزنه‌های بالایی برگ به‌ترتیب سه و ۲۷ درصد در *E. camaldulensis* و *E. microtheca* کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$). در *E. occidentalis* نیز مقایسه میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

غلظت سرب در اندام‌های مختلف

مقایسه میزان جذب سرب در گیاهان، بیان‌گر معنی‌داری اثرات اصلی دو فاکتور گونه و غلظت‌های مختلف سرب و نیز اثرات متقابل دو فاکتور بود (جدول‌های ۱، ۲ و ۳). نتایج بیان‌گر آن بود که بیشترین غلظت جذب‌شده در برگ مربوط به *E. occidentalis* بود که ۲/۳۸ و ۱/۸۲ برابر غلظت سرب تجمع‌یافته در برگ *E. camaldulensis* و *E. microtheca* بود (جدول ۲). بیشترین غلظت و کمترین غلظت سرب جذب‌شده در ریشه نیز به‌ترتیب در *E. camaldulensis* (۶۰۹۹ mg kg^{-1} D.W.) و *E. occidentalis* (۱۲۸ mg kg^{-1} D.W.) مشاهده شد. غلظت سرب تجمع‌یافته در برگ سه گونه نیز مشابه با ریشه و ساقه گیاه با افزایش غلظت تیمار سرب افزایش معنی‌داری را نشان داد. میزان افزایش سرب تجمع‌یافته در تیمار ۲۰۰ mg l^{-1} به‌ترتیب در *E. camaldulensis*، *E. microtheca* و *E. occidentalis* تا ۴۲۳ mg kg^{-1} D.W.، ۳۳۰ و ۲۹۶۹ مشاهده شد (شکل ۱).

بحث

در پژوهش پیش‌رو، نونهال‌های اکالیپتوس به‌طور عمده از طریق توقف رشد و القای حفاظت‌کننده‌های اسمزی در برابر تنش سرب پاسخ دادند. افزایش مقدار قندهای احیاکننده در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی (تنش شوری، خشکی، عناصر سنگین و غیره) تاکنون بارها گزارش شده است (Assareh *et al.*, 2008; Shariat & Assareh, 2009). تنظیم اسمزی می‌تواند به‌وسیله تبدیل پلی‌ساکاریدها (نشاسته، فروکتان‌ها) به یک‌دیگر و الیگوساکاریدها (ساکارز و گلوکز) به یکدیگر کنترل شود، زیرا پتانسیل اسمزی بستگی به تعداد مولکول‌های ماده دارد (Hendry & Wallace, 1993). تحقیقات پژوهشگران دیگر نیز حاکی از افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش عناصر سنگین ازجمله سرب بود (Malar *et al.*, 2014; El-Khatib & Faheed, 2015). وجود یون سرب در سیتوسول سلول‌های برگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای غیرمحلول و اسید اینورتاز و سوکروز سنتاز می‌شود. درنتیجه در غلظت‌های پایین سرب، بر مقدار قندهای محلول اضافه شد، اما علت کاهش در غلظت‌های بیشتر به‌احتمال زیاد به‌دلیل کاهش فتوسنتز یا تحریک سرعت تنفس بود (Ahmad *et al.*, 2006). در پژوهش پیش‌رو با افزایش غلظت سرب، ابتدا میزان قندهای محلول افزایش و سپس در غلظت‌های بیشتر کاهش یافت. پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی، ربایندهٔ گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و حفاظت‌کننده ساختار پروتئین‌ها است و منجر به محافظت سلول‌های گیاه از آسیب‌های ناشی از تنش می‌شود (Krasensky & Jonak, 2012). نتایج بررسی‌های پژوهش پیش‌رو نشان داد که با افزایش تنش عنصر سرب، مقدار پرولین نیز افزایش یافت. با توجه به تجمع زیاد پرولین در *E. camaldulensis* می‌توان به این نتیجه رسید که این گیاه از استراتژی تجمع پرولین در تحمل به تنش پیروی می‌کند. در اثر افزایش غلظت سرب میزان پرولین در برگ‌ها از ۱/۵ برابر در *E. camaldulensis* تا ۲/۹ برابر در *E. occidentalis* نسبت‌به نمونه شاهد افزایش یافت. درحقیقت، مکانیسم متابولیکی برای مقابله با تنش سرب منجر به افزایش میزان این آنزیم شد. در مورد اثر سرب بر میزان پرولین در گونه‌های دیگر اکالیپتوس نیز نتایج مشابهی گزارش شد. مقدار پرولین در *E. rostorata* (El-Khatib & Faheed, 2015) در پاسخ به عناصر سنگین موجود در هوا افزایش معنی‌داری یافت. چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در حین تنش پیشنهاد

شده است که عبارتند از: تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش خروج آن از طریق آوند آبکش، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و تخریب و اختلال در فرآیند سنتز پروتئین (Rivas Ubach, 2013). نتایج پژوهش پیش‌رو بیان‌گر فعال شدن مکانیسم‌های چندگانه مقابله با استرس اکسیداتیو سرب و روند تغییرات پرولین، قندهای محلول و برخی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک بود که منجر به نگهداری و محافظت گیاه در برابر فلز سمی سرب می‌شود.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت تیمارهای سرب، از مقدار رنگیزه‌های گیاه (کلروفیل کل و کاروتنوئید) به‌طور معنی‌داری کاسته شد. بیوسنتز کلروفیل و رنگدانه‌ها در گیاهان عالی دارای حساسیت زیادی نسبت به تیمارهای فلزات سنگین است (Malar *et al*., 2014). می‌توان این‌گونه فرض کرد که سرب، بیوسنتز کلروفیل را از طریق اختلال در جذب عناصر ضروری در ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی مختل می‌کند. این عناصر شامل منیزیم، پتاسیم و کلسیم هستند (Piotrowska *et al*., 2009). در پژوهش پیش‌رو اثر غلظت‌های مختلف سرب تأثیر معنی‌داری بر طول و تعداد روزنه‌های زیرین برگ نداشت، اگرچه در مورد روزنه‌های زبرین، اثر معنی‌داری در *E. camaldulensis* و *E. microthec*a مشاهده شد. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات انجام‌شده با میکروسکوپ الکترونی (SEM) نشان داد که اثر مهم سمیت سرب، کاهش اندازه دهانه روزنه‌ها و برعکس، افزایش اندازه سلول‌های محافظ روزنه است. سرب موجود در هوا از طریق دهانه روزنه وارد برگ می‌شود و سمیت آن باعث آسیب فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه می‌شود، بنابراین گیاه در مقابله با تنش از طریق کاهش قطر روزنه‌ها سعی در پیشگیری از ورود سرب می‌کند (Sharma & Dubey, 2005). مقایسه نتایج پژوهش پیش‌رو با پژوهش‌های دیگر بیان‌گر آن است که روزنه‌ها یکی از اندام‌های حساس نسبت به تنش سرب محسوب می‌شوند که یا از طریق کاهش طول سلول‌های محافظ و یا از طریق کاهش دهانه روزنه در مقابل آلودگی سرب مقاومت می‌کنند. بررسی سه گونه اکالیپتوس مورد نظر در پژوهش پیش‌رو در شرایط گلخانه بیان‌گر سازگاری مؤثر این گیاه در غلظت‌های زیاد سرب بود، بنابراین پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی از سه گونه مذکور در عرصه به‌منظور پالایش خاک‌ها و آب‌های آلوده استفاده شود. نتایج بیان‌گر آن بود که با وجود کاهش رشد و بروز تغییرات معنی‌دار در صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک، هرسه گونه اکالیپتوس در غلظت‌های زیاد سرب، به رشد خود ادامه دادند و مقادیر زیادی از این عنصر را در ریشه، برگ و ساقه ذخیره کردند. این نتایج به روشنی نشان می‌دهد که افزایش قندهای محلول، پرولین و نیز کاهش تعداد روزنه، کلروفیل و کاهش وزن خشک برگ، ساقه و ریشه از شاخص‌ترین واکنش‌های سه گونه اکالیپتوس مورد مطالعه نسبت به تنش سرب است. اگرچه هر سه گونه عنصر سرب را تا حد زیادی جذب کردند، اما با توجه به این‌که بیشترین شاخص تحمل تنش و میزان سرب جذب‌شده در برگ‌ها، مربوط به *E. occidentalis* بود، این گونه به‌عنوان پالایش‌گر عنصر سرب معرفی می‌شود. از آنجایی‌که آلودگی در شهرهای بزرگی مانند تهران، مشهد و اصفهان بسیار زیاد است، لزوم استفاده از گیاهان تندرشد و همیشه‌سبز مانند *E. occidentalis* از ضروریات است. البته برای این‌که مشخص شود چه مقدار اکالیپتوس برای پاک‌سازی خاک‌ها باید کاشته شود، نیاز به اجرای پژوهشی گسترده در عرصه است که طی آن نهال‌های اکالیپتوس در مناطق آلوده کاشته شوند و نمونه‌برداری در چند سال متوالی انجام شود. بنابراین برای کاربردی شدن نتایج پژوهش پیش‌رو پیشنهاد می‌شود که ادامه آن در عرصه نیز انجام شود.

References

- Ahmad, P., Sharma, S. and Srivastava, P.S., 2006. Differential physio-biochemical responses of high yielding varieties of Mulberry (*Morus alba*)

irrigation. Science of the Total Environment, 493: 995-1005.
- Hendry, G.A.F. and Wallace, R.K., 1993. The origin, distribution and evolutionary significance of fructans: 119-139. In: Suzuki, M. and Chatterton, J.N. (Eds.). Science and Technology of Fructans. CRC Press, Boca Raton, 384p.
- Hunt, R., 1990. Basic Growth Analysis: Plant Growth Analysis for Beginners. Unwin Hyman Publisher, London, 112p.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-60.
- Krasensky, J. and Jonak, C., 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Journal of Experimental Botany, 63: 1593-1608.
- Levy, D.B., Redente, E.F. and Uphoff, G.D., 1999. Evaluating the phytotoxicity of Pb-Zn tailings to big bluestem (*Andropogon gerardii* vitman) and swichgrass (*Panicum virgatum* L.). Soil Science, 164(6): 363-375.
- Malar, S., Shivendra Vikram, S., Favas, P.J.C. and Perumal, V., 2014. Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. Botanical Studies, 55(54): 1-11.
- Moor, R.H., 1960. Laboratory Guide for Elementary Plant Physiology. Burgess Publication, Minneapolis, 144p.
- Nazir, R., Khan, M., Masab, M., Rehman, H.U., Rauf, N.U., Shahab, S. and Shaheen, Z., 2015. Accumulation of heavy metals (Ni, Cu, Cd, Cr, Pb, Zn, Fe) in the soil, water and plants and analysis of physicochemical parameters of soil and water collected from Tanda Dam Kohat. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7(3): 89-97.
- Ncube, E. and Phiri, B., 2015. Concentrations of heavy metals in Eucalyptus and Pinus wood sawdust and smoke, Copperbelt province, Zambia. Maderas, Ciencia Y Tecnología, 17(3): 585-596.
- Pelfrêne, A., Waterlot, C. and Douay, F., 2013. under alkalinity (Na_2CO_3) stress in vitro. Physiology and Molecular Biology of Plants, 12: 59-66.
- Amini, M., Afyuni, M., Khademi, H., Abbaspour, K.C. and Schulin, R., 2005. Mapping risk of cadmium and lead contamination to human health in soils of central Iran. Science of the Total Environment, 347(1-3): 64-77.
- Assareh, M.H., Shariat, A. and Ghamari Zare, A., 2008. Seedling response of three Eucalyptus species to toxic concentration of copper and zinc in solution culture. Caspian Journal of Environmental Science, 6(2): 97-103.
- Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Beadle, C.L., 1993. Growth analysis: 36-46. In: Hall, D.O., Scurelock, J.M.O., Bolhar-Nordenkampf, H.R., Leegood, R.C. and Long, S.P. (Eds.). Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A Field and Laboratory Manual. Springer Netherlands, Netherlands, 477p.
- Douay, F., Pelfrêne, A., Planque, J., Fourrier, H., Richard, A., Roussel, H. and Girondelot, B., 2013. Assessment of potential health risk for inhabitants living near a former lead smelter, part 1: metal concentrations in soils, agricultural crops, and homegrown vegetables. Environmental Monitoring and Assessment, 185: 3665-3680.
- Ekmekci, Y., Tanyolac, D. and Ayhan, B., 2009. A crop tolerating oxidative stress induced by excess lead: maize. Acta Physiologia Plantarum, 31: 319-330.
- El-Khatib, A. and Faheed, F.A., 2015. Physiological response of *Eucalyptus rostorata* to heavy metal air pollution. El-Minia Science Bulletin, 15(2): 429-451.
- Fernandez, G., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress. Tainan, Taiwan, 13-18 Aug. 1992: 257- 277.
- Fine, P., Paresh, R., Beriozkin, A. and Hass, A., 2014. Chelant-enhanced heavy metal uptake by Eucalyptus trees under controlled deficit

Influence of land use on human bioac-cessibility of metals in smelter-impacted soils. Environmental Pollution, 178: 80-88.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska, B., Czerpak, R. and Kaminska, M., 2009. Jasmonic acid as modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lamnaceae). Environmental and Experimental Botany, 66: 507-513.
- Rivas Ubach, A., 2013. Stoichiometric and metabolomic shifts of organisms under environmental changes. Ph.D. thesis, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, 394p.
- Rosen, C.J., 2002. Lead in the home garden and urban soil environment (Report). Published by University of Minnesota Extension, Minnesota, 4p.
- Shabanian, N. and Cheraghi, Ch., 2013. Comparison of phytoremediation of heavy metals by woody species used in urban forestry of Sanandaj city. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 21(1): 154-165 (In Persian).
- Shariat, A. and Assareh, M.H., 2008. Effects of drought stress on pigments, prolin, soluble sugar and growth parameters on four Eucalyptus species. Pajouhesh & Sazandegi, 78: 139-148 (In Persian).
- Shariat, A. and Assareh, M.H., 2009. Effects of drought stress on *Eucalyptus camaldulensis* at germination and seedling stage: 244-254. In: Kharazipour, A.R., Schöpper, Ch., Müller, C. and Euring, M. (Eds.). Review of Forests, Wood Products and Wood Biotechnology of Iran and Germany (Part 3). Published by University of Goettingen, Goettingen, 329p.
- Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology, 17: 35-52.
- Voleníková, M. and Tichá, I., 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. Biologia Plantarum, 44: 161-165.
- Watson, D.J., 1952. The physiological basis of variation in yield. Advanced Agronomy, 4: 101-145.
- Westerman, R.L., 1990. Soil Testing and Plant Analysis. Soil Science Socity of America Press, Madison, 571p.

Osmoprotectants and physiological responses of three *Eucalyptus* species to toxic concentrations of lead

A. Shariat [1*], M.H. Assareh [2] and A. Ghamari Zare [3]

1*- Corresponding author, Ph.D. Plant Breeding, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: shariat@rifr-ac.ir

2- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3- Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 06.03.2016 Accepted: 31.07.2016

Abstract

One of the serious problems across the world is heavy metal pollution in water bodies that caused by Lead (Pb). This study was designed to find out the effect of Pb toxicity on physiological and biochemical changes in three *Eucalyptus* species (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. microtheca* F. Muell and *E. occidentalis* Endl.).Seeds were grown in marble chips and irrigated with nutrient solution. The seedling (42 days old) were exposed to $Pb(NO_3)_2$ treatments (Pb:50, 100, 200 mM) for ten months. After this period, leaf, stem and root tissues were harvested. Lead content were determined by ICP-OES and some physiological and morphological characters were determined. The order of Pb accumulation in three species were *E. occidentalis*> *E. camaldulensis*> *E. microtheca*. The concentrations of lead in root tissue were higher than leaf and stem tissue and stem concentration was lower than the concentration of leaf (root Cu>leaf Cu>stem Cu). Tissue concentration increased as Pb increased in three species. The content of prolin, soluble sugar raised by increasing metal concentrations, but the content of pigments, relative water content and specific leaf area decreased. These results suggest that eucalypts have efficient mechanism to tolerate Pb toxicity, as evidenced by accumulating of osmoprotectants. Comparison of three *Eucalyptus* species revealed that *E. occidentalis* had the highest concentrations of Pb in the leaves and stems. Accumulation of Pb in the *E. occidentalis* leaves was 2.38 and 1.82 times more than *E. microtheca* and *E.camaldulensis* respectively. Although the least amount of stress tolerance index (0.76) was observed in *E. occidentalis*. In general, the results showed that *Eucalypts* could be considered as a tolerant species for hyperaccumulation of lead and phytoremediation of contaminated soil by lead.

Keywords: Heavy metal toxicity, phytoremediation, pigments, Prolin, soluble sugar.