اثر متیل جاسمونات بر جذب و تجمع سرب در گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.)

زهرا دستجردی، اکبر صفی پور افشار* و فاطمه سعید نعمت پور
گروه زیست شناسی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۸/۳)

چکیده:

فلزات سنگین از مهم‌ترین آلاینده‌ها در محیط زیست به شمار می‌روند. ورود فلزات سمی از طریق فعالیت‌های انسانی باعث آلودگی بسیاری از خاک‌ها شده است. حضور این فلزات در خاک و تجمع آن‌ها در گیاهان رشد یافته در این خاک‌ها اثرات سوء بر مصرف کنندگان خواهد داشت. یک رویکرد برای کاهش تجمع فلزات سنگین در گیاهان استفاده از هورمون‌های گیاهی است. این تحقیق به منظور بررسی تاثیر متیل جاسمونات بر تجمع سرب در گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) در محیط هیدروپونیک انجام شد. سرب به صورت سولفات و با غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و۷۵۰ میلی گرم در لیتر و متیل جاسمونات با غلظت‌های صفر، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی مولار استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. پس از اعمال تیمارها غلظت کلروفیل‌های a و b، غلظت پرولین و میزان تجمع سرب در بخش هوایی و ریشه‌ای گیاهان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که سرب باعث کاهش مقدار کلروفیل‌های a و b و افزایش غلظت پرولین به طور معنی‌دار شد که با اسپری برگی متیل جاسمونات (تیمار ۰/۰۱ میلی مولار) غلظت کلروفیل افزایش یافت. افزون بر آن تیمار متیل جاسمونات در حضور سرب باعث افزایش معنی‌دار غلظت پرولین شد. رشد گیاهان در محیط حاوی سرب سبب تجمع این فلز در بخش هوایی و ریشه شد، به طوری که غلظت سرب در ریشه به صورت معنی‌داری از بخش هوایی بیشتر بود و اسپری متیل جاسمونات در هر دو غلظت سبب کاهش تجمع سرب هم در ریشه و هم در بخش هوایی گردید. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد که گیاه تربچه گیاهی مستعد ذخیره فلزات سنگین مانند سرب در بخش خوراکی می‌باشد که این سمیت را می‌توان با استفاده از غلظت‌های مناسب متیل جاسمونات کاهش داد.

کلمات کلیدی: پرولین، تربچه، فلز سنگین، جاسمونات.

مقدمه:

فلزات سنگین به عنوان یک مسئله خطر ساز از ابعاد مختلف، به طور جدی می‌توانند زیست انسان و سایر موجودات زنده را به خطر بیندازند. یکی از عمده‌ترین منابع تولید کننده این فلزات، سنگ‌های معادن و غبارهای آتشفشانی می‌باشد ولی در کنار این‌ها انسان خود به اشکال مختلف مانند صنایع رنگرزی، آبکاری فلزات و باطری سازی در انتشار فلزات سنگین نقش دارد(Aldrich and Feng, 2000) . سرب فلزی سنگین به رنگ خاکستری مایل به آبی، عدد اتمی ۸۲ و نقطه ذوب ۳۲۷ درجه سانتی‌گراد است. این عنصر در خاک به مقدار بسیار کم یافت می‌شود اما مقدار آن از طریق پساب‌های صنعتی، مصرف سوخت‌های فسیلی و کودهای شیمیایی مدام در حال افزایش است. سرب و ترکیبات آن قابل تجزیه نبوده و به راحتی وارد زنجیره غذایی شده و سلامت موجودات زنده را تهدید می‌کند. همچنین زیان سرب بیشتر ناشی از توان جابجایی کم و رسوب پذیری بالای آن است (Tassi *et al.*, 2008). سرب طیف وسیعی از آسیب‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان سبب می‌شود که می‌توان به کاهش رشد، مهار جوانه‌زنی،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: asafshar@yahoo.com

جلوگیری از سنتز کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو (Ruciska-Sobkowiak and Pukacki, 2006) اشاره کرد.

استفاده از هورمون‌های گیاهی در راستای کاهش جذب و تجمع فلزات سنگین در گیاهان می‌تواند روش مناسبی برای کاهش آسیب‌های مربوطه باشد. در همین رابطه گزارشاتی در خصوص کاربرد این هورمون‌ها و اثرات مفید آن‌ها وجود دارد (Maksymiec and Krupa, 2006;Maksymiec *et al.*, 2007). جاسمونات‌ها از تنظیم کننده‌های مهم سلولی بوده و در فرایندهای نموی مختلف گیاه شامل جوانه‌زنی دانه، رشد ریشه، باروری، رسیدن میوه و پیری دخالت دارند به علاوه جاسمونات‌ها به عنوان یک ملکول پیام رسان با فعال کردن مسیرهای پیام رسانی، تحمل گیاه به تنش‌های غیر زیستی مانند تنش فلزات سنگین را افزایش می‌دهند (Poschenrieder *et al.*, 2008). این هورمون گیاهی با فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز و از پراکسیدهای لیپیدی تشکیل می‌شود. گزارشاتی وجود دارد که این هورمون در نتیجه تنش اکسیداتیو القاء شده با فلزات سنگین نیز تولید می‌شود. در واکنش گیاهان به تنش، جاسمونات ها به عنوان کدکننده ژن‌های پروتئین‌های بازدارنده نظیر تئونین، هیدروکسی پرولین و پرولین عمل می‌کنند و به طور کلی با فعال سازی مکانیسم‌های دفاعی، گیاه را در کاهش جذب و تجمع فلزات سنگین یاری می‌رسانند (Piotrowska *et al.*, 2009).

تربچه گیاهی است یک ساله و علفی از خانواده‌ی شب بو و به عنوان سبزی خوردن در مناطق مختلف ایران کشت می‌شود. بخش خوراکی این گیاه ستبر و در تماس مستقیم با خاک قرار دارد. بنابراین فلزات سنگین به راحتی در آن تجمع یافته و برای مصرف کنندگان مضر خواهد بود. هدف از این تحقیق ارزیابی توانایی هورمون متیل جاسمونات در کاهش جذب و تجمع فلز سرب در گیاه خوراکی تربچه است.

مواد و روش‌ها:

کشت و تیمار گیاهان: این آزمایش در آزمایشگاه تحقیقات گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور و در تابستان ١٣٩١ انجام شد. بذرهای سالم پس از شستشو به مدت ٢ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ٢٠٪ ضدعفونی شدند و درون پتری دیش های اتوکلاو شده به روش بین کاغذی کشت داده شدند. پتری دیش‌ها حاوی بذور ابتدا در اتاقک رشد و در تاریکی و دمای ٢٥ ^{o}C قرار گرفتند. سپس گیاهچه‌های دو روزه تربچه به داخل گلدان‌های پلی اتیلنی حاوی محیط کشت هوگلند-آرنون (Hoagland and Arnon, 1950) که سطح آن‌ها با پوشش آلومینیومی پوشانده شده بود، منتقل شدند. اکسیژن لازم برای تنفس ریشه‌ها از طریق پمپ‌های هوا به صورت مداوم فراهم گردید که باعث هم زدن محلول غذایی نیز می‌شد. تعداد گیاهان در هر گلدان ٦ گیاه بود. تعویض محلول‌ها هر هفت روز یک‌بار انجام شد و هر دو روز یک‌بار، محلول تبخیر شده از ظرف به وسیله آب مقطر جبران شد و pH محلول غذایی بر روی ٦/٥ تنظیم گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله ٤ برگی سرب به صورت سولفات سرب و در غلظت‌های مختلف (صفر، ٢٥٠، ٥٠٠ و ٧٥٠ میلی گرم در لیتر) به محلول غذایی اضافه شد. متیل جاسمونات در غلظت‌های صفر، ٠/٠١ و ٠/١ میلی مولار و یک هفته پس از اعمال تیمار سرب به صورت محلول پاشی و هفته‌ای دو بار به مدت دو هفته اعمال شد. در گیاهان شاهد از آب مقطر به جای محلول هورمونی استفاده شد. گیاهان تیمار شده به مدت سه هفته در دمای ٢±١٦: ٢±٢٥ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ١٦:٨ ساعت به ترتیب تاریکی : نور قرار گرفته و سپس گیاهان جهت انجام سنجش های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد نظر جمع آوری شدند.

سنجش غلظت کلروفیل‌های *a* و *b* : بعد از اتمام دوره تیمار، اندازه‌گیری کلروفیل‌ها به روش Arnon (١٩٤٩) صورت گرفت. بدین منظور ٠/٥ گرم از بخش هوایی گیاه به دقت توزین شد. نمونه‌های گیاهی با کمک ٥ میلی لیتر استون ٨٠٪ (v/v) در داخل یک هاون چینی سائیده شده و به صورت هموژن و یکنواخت درآمدند. سپس با کمک قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی واتمن شماره ٢، محلول تهیه شده صاف گردید. حجم نهایی عصاره به دست آمده٢٠ میلی لیتر می‌باشد.

جهت محاسبه غلظت کلروفیل های*a* و*b*، جذب محلول در طول موج‌های ٦٤٥ و٦٦٣ (D_{663} , D_{645}) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/VIS $T80^{+}$ ساخت شرکت PG Instruments با استفاده از شاهد استون ٨٠٪ خوانده و محاسبه

گردید.

کلروفیل a =[12.7(D_{663})-2.69(D_{645})]×(V/1000×W)

کلروفیل b = [22.9(D_{645})-4.68(D_{663})]×(V/1000×W)

حجم کلروفیل استخراج شده بر حسب میلی لیتر= V

وزن‌تر بافت مورد استفاده بر حسب گرم = W

اندازه گیری غلظت پرولین: نمونه‌های گیاهی توزین شده (یک گرم) در۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده شده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. آن گاه ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و۲ میلی لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن ماری با دمای ۱۰۰درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند. سپس لوله‌ها در حمام یخ به مدت نیم ساعت قرار گرفتند. به هر لوله آزمایش ٤ میلی لیتر تولوئن افزوده شد و میزان جذب لایه رنگی فوقانی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٤٦ نانومتر قرائت گردید. سپس محتوای پرولین هر نمونه با استفاده از رسم منحنی استاندارد بر اساس میکرو مول در میلی گرم وزن‌تر نمونه گیاهی محاسبه شد (Bates *et al.*, 1975).

سنجش غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه: پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، به مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای٦٠ درجه قرار داده شدند. سپس ریشه‌ها و اندام‌های هوایی در هاون چینی کوبیده و آسیاب گردید تا بهتر در اسید حل شود. از اندام‌های هوایی ۰/۵ گرم و از ریشه‌ها ۰/۲ گرم برداشت شده و ۲۰ سی‌سی اسید نیتریک ٤ نرمال به آن‌ها اضافه شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب گرم (٦٠ ^{o}C) به مدت ۲ ساعت، محلول حاصل با استفاده از قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی واتمن صاف شد و حجم نهایی به۵۰ میلی لیتر رسانده شد (Lozak *et al.*, 2002). در پایان غلظت سرب بر اساس میکروگرم در گرم وزن خشک اندام با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل AAS-240 ساخت شرکت Agilent Technologies اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون برای فلز سرب، ۱۰ استاندارد به غلظت‌های ۰/۱۰۰ ,۰/۲۵۰ , ۰/۵ ,۱ ,۲ ,۲/۵ ,۵ ,۷/۵ ,۱۰و ۱۲ میلی گرم در لیتر در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری داده‌ها: در این تحقیق آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و در مورد صفاتی که برهمکنش بین دو عامل سولفات سرب و متیل جاسمونات برای آنها معنی دار گردید، برش دهی اثر سطوح مختلف هورمون متیل جاسمونات در هر سطح سولفات سرب صورت گرفت.

نتایج:

در این پژوهش اثرات ساده و متقابل کلیه فا کتورها بر **غلظت** کلروفیل‌های *a* و *b*، غلظت پرولین و غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول۱). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سولفات سرب در محیط رشد گیاه، غلظت کلروفیل‌های *a* و *b* کاهش یافت اما اسپری متیل جاسمونات با غلظت ۰/۰۱ میلی مولار در گیاهان تیمار شده با سولفات سرب و همچنین شاهد سبب افزایش غلظت کلروفیل‌های *a* و *b* شد (شکل ۱ a و b). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سولفات سرب، میزان پرولین افزایش می‌یابد و اسپری متیل جاسمونات در غلظت‌های مختلف نیز سبب افزایش مقدار پرولین شد (شکل ۱ c).

مقایسه میانگین‌ها نشان دهنده آن است که با افزایش غلظت سولفات سرب در محلول غذایی، میزان تجمع سرب در ریشه و بخش هوایی گیاه افزایش یافته است و غلظت سرب تجمع یافته در ریشه به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از بخش هوایی است. با کاربرد متیل جاسمونات از غلظت سرب تجمع یافته در بخش هوایی و ریشه گیاه به طور معنی‌داری کاسته شده است و این کاهش در همه غلظت‌های سولفات سرب استفاده شده دیده می‌شود. همچنین متیل جاسمونات در هردو غلظت ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی مولار سبب کاهش سرب جذب شده می‌گردد (شکل ۲ a و b).

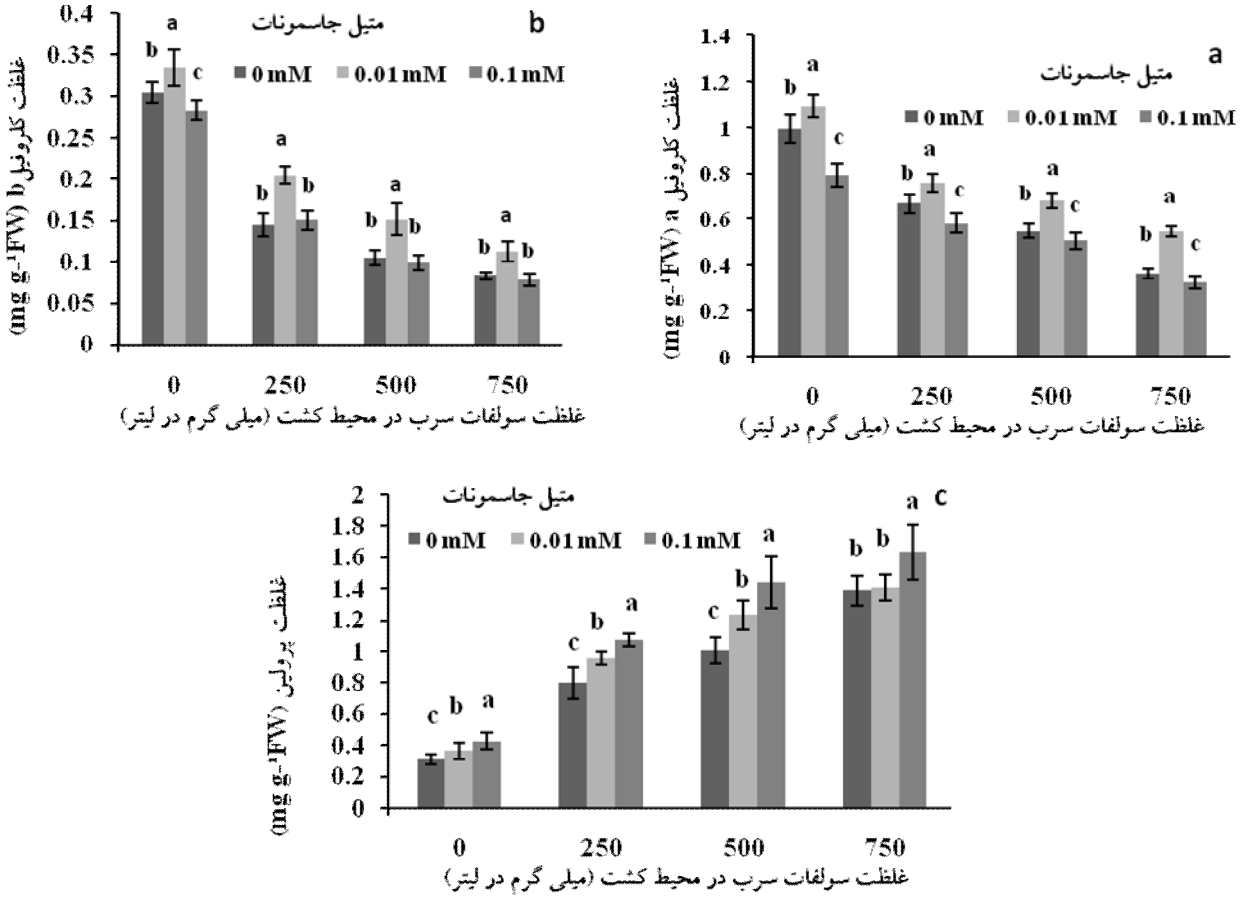
بحث:

اثر غلظت‌های مختلف سرب و متیل جاسمونات بر میزان

جدول ١- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

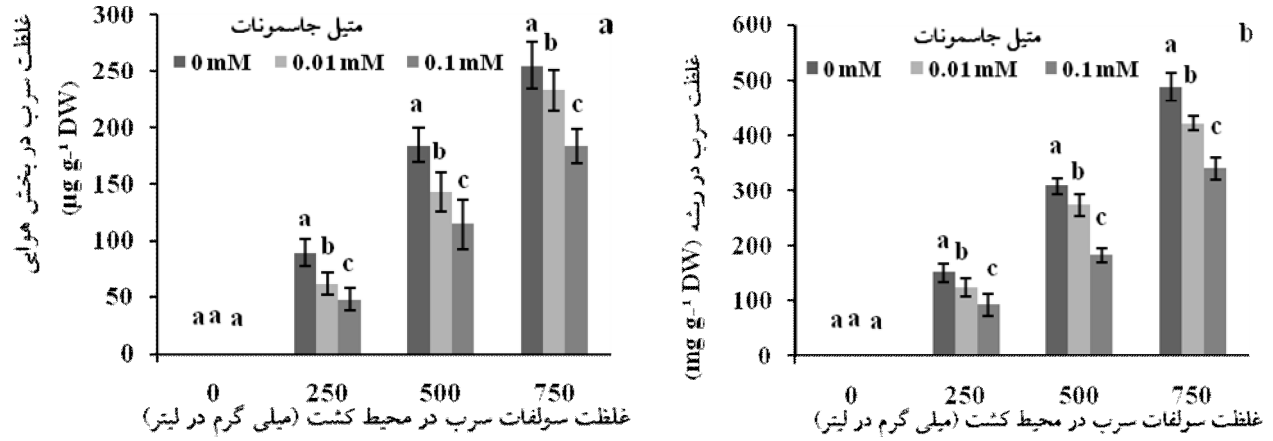
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل *a* میلی گرم بر گرم وزن‌تر	کلروفیل *b* میلی گرم بر گرم وزن‌تر	پرولین	غلظت سرب در اندام هوایی	غلظت سرب در ریشه
سولفات سرب	٢	٠/٤٧٧**	٠/٠٨٣**	٢/٠٤٧**	٨٥٦٢٩**	٢٨٩١٧٠**
متیل جاسمونات	٣	٠/١٤٦**	٠/٠٠٨**	٠/٢١٨**	٦٣١٣**	٢٠٩٤٨**
سولفات سرب و متیل جاسمونات	٦	٠/٠٠٥**	٠/٠٠٠٢**	٠/٠١٦**	٩٣٤**	٣٥٣٢**
خطا	٢٤	٠/٠٠٠٣	٠/٠٠٠٠١	٠/٠٠١٠	٦/٤	١١

**، *، ns به ترتیب، معنی دار بودن در سطح ١٪ و ٥٪ و معنی دار نبودن



شکل ١- تأثیر متقابل متیل جاسمونات و سولفات سرب بر غلظت کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b) و پرولین (c). میانگین ها حاصل ٣ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند. گروه های سولفات سرب به طور مجزا مقایسه و حروف گذاری شده‌اند.

کلروفیل: قرارگیری گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین موجب کاهش بیوسنتز کلروفیل می‌شود. گزارش شده است که جایگزین شدن Hg, Cu, Cd, Ni, Zn و Pb در کلروفیل به جای Mg که مکانیسم اصلی کارکردی سمیت فلزات سنگین است، منجر به کاهش کلروفیل و شکست در فتوسنتز می‌شود (Sengar *et al.*, 2008). همچنین مهار



شکل ۲- تأثیر متقابل متیل جاسمونات و سولفات سرب بر غلظت سرب جذب شده در بخش هوایی (a) و ریشه گیاه تربچه (b). میانگین ها حاصل ۳ تکرار و حروف غیر مشترک نشانه اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون دانکن است. بارها نشاندهنده خطای استاندارد می‌باشند. گروه های سولفات سرب به طور مجزا مقایسه و حروف گذاری شده‌اند.

فرآیندهای کلیدی در بیوسنتز کلروفیل (بیوسنتز ۵ آمینو لوولنیک اسید، آمینو لوولنیک اسید دهیدراتاز و پرتوکلروفیلد ردوکتاز)، سبب کاهش ذخیره کلروفیل در برگ‌ها می‌شود (Prasad *et al.,* 2003). فلزات سنگین با تولید رادیکالهای آزاد نیز باعث تخریب ملکول‌های کلروفیل می‌شوند و متیل جاسمونات با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز در کلروپلاست و حذف رادیکال‌های آزاد از تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی جلوگیری می‌کند (Popova, 2003; Maksymiec and Krupa, 2006). همچنین متیل جاسمونات باعث بیان ژن‌های آنزیم‌های کلیدی دخیل در بیوسنتز کلروفیل از طریق تحریک تشکیل ۵- آمینو لوولنیک می‌گردد (Saniewski, 2006).

اثر سرب و متیل جاسمونات بر میزان پرولین: اسید آمینه پرولین فراوانترین متابولیتی است که در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های غیر زنده همانند فلزات سنگین، شوری، خشکسالی، سرما، کمبود مواد غذایی و اسیدیته بالا تجمع می‌یابد(Szabados and Savouré, 2010). در پژوهش حاضر نیز گیاه تربچه به منظور دفاع در برابر تنش حاصل از فلز سنگین سرب، میزان پرولین آزاد را افزایش داد. که به نظر می رسد افزایش میزان پرولین از طریق تجزیه پروتئین‌ها در برگ‌های بالغ باشد که سبب افزایش اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین می‌شود. همچنین می‌تواند ساخت پرولین در کلروپلاست شروع شود که استخراج ماده پرولین اسید - کربوکسیلاز از کلروپلاست بر این موضوع دلالت دارد. سنتز پرولین از دو مسیر گلوتامات و آرانیتین انجام می‌شود که افزایش پرولین به دلیل القای فعالیت آنزیم‌های پیرولین ۵ـ کربوکسیلیک اسید سینتاز و پیرولین ۵ـ کربوکسیلیک اسید ردوکتاز در شرایط تنش می‌باشد (Hare and Cress, 1997). پرولین علاوه بر حفظ تعادل اسمزی گیاه بعنوان پایدار کننده پروتئین‌ها، کلات کننده فلزی، مهار کننده پراکسیداسیون لیپیدی و حذف کننده رادیکال های آزاد شناخته می‌شود (Mishra and Dubey, 2006). جاسمونیک اسید نیز در شرایط تنش فلزی میزان پرولین را افزایش می‌دهد که به نظر می‌رسد در واکنش گیاهان نسبت به تنش، جاسمونیک اسید به عنوان تنظیم کننده‌ی ژن‌های پروتئین‌های بازدارنده نظیر تئونین، اسموتین، هیدروکسی پرولین و پرولین عمل کرده و با تنظیم افزایشی آنها به ویژه پرولین سبب افزایش میزان این اسید آمینه در شرایط تنش می‌شود (Wasternack and Kombrink, 2009).

اثرات سرب و متیل جاسمونات بر میزان تجمع سرب در تربچه: گزارشات متعددی مبنی بر ارتباط بین جذب و تجمع سرب و فعال شدن آنزیم لیپوکسیژناز وجود دارد که این آنزیم مسئول تجزیه لیپیدها و بیوسنتز جاسمونات‌ها است

(Poschenrieder *et al.*, 2006). سنتز جاسمونات‌ها در پاسخ به فلزات سنگین به دلیل نقش این فیتوهورمون در تنش‌های غیر زیستی است. به طور مثال در مطالعه انجام شده توسط Liu و همکاران (۲۰۰۹) تیمار گیاه *Arabidopsis thaliana* با نیترات سرب سبب افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز جاسمونیک مانند آلن اکسید سنتتاز (AOS) شد. در تحقیق حاضر کاربرد متیل جاسمونات سبب کاهش تجمع سرب در گیاه تربچه گردید. البته در مطالعات زیادی بر نقش هورمون‌های گیاهی در کاهش تجمع فلزات سنگین تاکید شده است مثلا Krantev و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که استفاده از سالیسیلیک اسید در گیاه ذرت سبب کاهش فلز کادمیوم در ریشه‌ها شد. در مورد نقش متیل جاسمونات در کاهش تجمع سرب می‌توان این گونه بیان داشت که این هورمون به عنوان یک ملکول سیگنال بیان ژن‌های درگیر در مکانیسم‌های دفاعی گیاه از جمله مسیر بیوسنتز فیتوکلاتین‌ها را فعال می‌کند که در اتصال به یون‌های فلزی و غیر سمی کردن آن‌ها نقش دارند. در اثبات این مدعا می‌توان به تحقیق انجام شده توسط Maksymioc و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کرد که نشان دادند متیل جاسمونات تجمع فیتوکلاتین‌ها را در گیاه *Arabidopsis thaliana* در حضور سرب و کادمیوم سبب شده و باعث تحمل گیاه به تنش این فلزات شد. البته در مطالعه‌ای دیگر بیان گردید که نقش دفاعی جاسمونات‌ها در برابر تنش‌های غیر زیستی از طریق افزایش بیان ژن‌های درگیر در متابولیسم گلوتاتیون انجام می‌شود (Liu *et al.*, 2009).

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که میزان سرب در بخش زیرزمینی به مراتب بیشتر از بخش هوایی است که در این رابطه می‌توان اظهار داشت که بخش زیرزمینی اولین جایگاهی است که در تماس با فلز بوده و مستقیماً با فلزات محلول در خاک ارتباط دارد و بخش زیادی از سرب جذب شده، متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند. به طوری که گزارش شده است ۹۰ درصد کل فلزات در ریشه‌ها، در ساختار دیواره سلولی یا در فضای بین دیواره و غشا متمرکز شده و ایجاد سمیت می‌کند، بدون آن که با مواد آلی، تشکیل ترکیبات پیچیده داده و یا به اندام هوایی منتقل شود (Pourrut *et al.*, 2011). دیواره سلولی لایه اندودرم به عنوان یک مانع برای انتشار آپوپلاستی داخل سیستم آوندی است. به طور کلی، مواد قبل از ورود به زایلم بایستی جذب سیم پلاست شوند، همین ممانعت از انتشار آپوپلاستی فلزات سبب افزایش تجمع آن‌ها در ریشه می‌گردد (Gupta *et al.*, 2013). همچنین ریشه‌ها به دلیل گستردگی بیشتری که نسبت به سایر قسمت‌های گیاه دارند جذب بیشتری دارند به طوری که فلزات به گیرنده‌های شیمیایی با میل ترکیبی بالا که در ریشه‌ها است متصل می‌شوند که نشان دهنده ناحیه سطحی بیشتر ریشه نسبت به بقیه قسمت‌های گیاه است (Suresh and Ravishankar, 2004). از عوامل دیگری که بر عدم تحرک فلزات سنگین تاثیر گذار هستند می‌توان به متالوتیونین‌ها اشاره کرد که فلزات سنگین با اتصال به آنها در بخش زیرزمینی باقی مانده و به بخش هوایی منتقل نمی‌شوند و افزایش بیان ژن Mt در دانه رستهای گیاه *Kandelia obvata* تحت تنش کادمیوم شاهدی بر این مدعا است (Chen *et al.*, 2014).

منابع:

Aldrich, C. and Feng, D. (2000) Removal of heavy metals from waste water effluents by biosorpitive flotation, Minerals Engineering, 13:1199-1138

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1–15.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Tears, I. D. (1975) Rapid determination of free proline in water stress studies. Plant Soil, 39: 205–207

Chen, J., Yan, Z. and Li, X. (2014) Effect of methyl jasmonate on cadmium uptake and antioxidative capacity in *Kandelia obovata* seedlings under cadmium stress. Ecotoxicology and Environmental Safety 104: 349-356.

Gupta, D. K., Huang, H. G. and Corpas, F. J. (2013) Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. Environmental Science and Pollution Research 20: 2150-2161.

Hare, P. and Cress, W. (1997) Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. Plant Growth Regulation, 21:79–102.

Bulgarian Journal of Plant Physiology, Special issue. 133–152.

Poschenrieder, C., Gunsé, B., Corrales, I. and Barceló, J. (2008) A glance into aluminum toxicity and resistance in plants. Science of The Total Environment, 400: 356-368.

Poschenrieder, C., Tolra, R. and Barcelo, J. (2006) Can metals defend plants against biotic stress? Trends in Plant Science, 11: 288-295.

Pourrut, B., Shahid, M., Dumat, C., Winterton, P. and Pinelli, E. (2011). Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 213. D. M. Whitacre, Springer New York. 213: 113-136.

Prasad, M.N.V. and Freitas, H. (2003) Metal hyper accumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology, 6:275-321.

Ruciska-Sobkowiak, R. and Pukacki, P. M. (2006) Antioxidative defense system in lupin roots exposed to increasing concentrations of lead. Acta Physiologiae Plantarum, 28: 357-364.

Sengar, R., Gautam, M., Sengar, R., Sengar, R., Garg, S., Sengar, K. and Chaudhary, R. (2008). Lead Stress Effects on Physiobiochemical Activities of Higher Plants. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol 196. D. M. Whitacre, Springer US. 196: 73-93.

Suresh, B. and Ravishankar, G. (2004) Phytoremediation-A Novel and Promising Approach for Environmental Clean-up, Critical Reviews in Biotechnology 24:97-124.

Szabados, L. and Savouré, A. (2010) Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15: 89-97.

Tassi, E., Pouget, J., Petruzzelli, G. and Barbafieri, M. (2008) The effects of exogenous plant growth regulators in the phytoextraction of heavy metals. Chemosphere, 71: 66-73.

Wasternack, C. and Kombrink, E. (2009) Jasmonates: Structural Requirements for Lipid-Derived Signals Active in Plant Stress Responses and Development. ACS Chemical Biology 5: 63-77.

Hoagland, D. R., and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station, 347(2nd edit).

Ibarra caballero, J., Villanuera Verdu Zco, J., Molina Galam, J. and Jimerez, E. S. D. (1988) Proline accumulation as a symptom of drought stress in maize: a tissue differentiation requirement, Journal of Experimental Botany 89: 889-897.

Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L. (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology, 165: 920–931.

Liu, T., Liu, S., Guan, H., Ma, L., Chen, Z., Gu, H. and Qu, L.-J. (2009) Transcriptional profiling of Arabidopsis seedlings in response to heavy metal lead (Pb). Environmental and Experimental Botany 67: 377-386.

Łozak, A., Sołtyk, K., Ostapczuk, P. and Fijałek, Z. (2002) Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. Science of the Total Environment 289: 33-40.

Maksymiec, W. and Krupa, Z. (2006) The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. Environmental and Experimental Botany, 57: 187-194.

Maksymiec, W., Wójcik, M. and Krupa, Z. (2007) Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate. Chemosphere, 66: 421-427.

Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P. and Zerbi, G. (2004) Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. Environmental Pollution, 132: 21-27.

Mishra, S., and Dubey, R. S. (2006) Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. International Journal of Agricultural Research, 1(2), 122-141.

Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Żyłkiewicz, B., Czerpak, R. and Kamińska, M. (2009) Jasmonic acid as modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). Environmental and Experimental Botany, 66: 507-513.

Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Zh. (2003) Salicylic acid-and Methyl jasmonate–induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress.