بررسی جذب و تجمع روی در پنیرک: جمعیتی جمع آوری شده از مناطق اطراف صنایع فولادسازی اهواز

پرژک ذوفن[1*]، نسرین شیرالی پور[1] و سعادت رستگارزاده[2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، [2] گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۵/۰٤، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۳/۲۰)

چکیده:

فعالیت‌های صنعتی می‌توانند منجر به ورود فلزات سنگین به محیط و در نهایت زنجیره‌های غذایی شوند. در این تحقیق با توجه به رویش پنیرک در اطراف صنایع فولاد سازی اهواز و اهمیت خوراکی و دارویی آن در استان خوزستان، توانایی جذب و تجمع روی در این گیاه مطالعه شد. بدین منظور، بذر گیاه از ناحیه فوق جمع آوری و پس از کشت گلدانی و انتقال گیاهان ٤ هفته ای به محیط هیدروپونیک، غلظت‌های مختلف روی شامل ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار به گیاهان اعمال شدند. برداشت گیاهان در زمان‌های ۰، ۳، ٦ و ۹ روز بعد از اعمال تیمار، نشان داد که با افزایش غلظت روی در محیط و گذشت زمان میزان این فلز در بخش هوایی در اکثر موارد افزایش، اما در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰۰ میکرومولار در بافت ریشه‌ای کاهش معنی‌داری می‌یابد. همچنین، وزن خشک و میزان تجمع روی در ریشه‌ها در همه غلظت‌ها به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری در مقایسه با بخش‌های هوایی از خود نشان داد. بر اساس مقادیر فاکتور انتقال کمتر از یک و فاکتور تغلیظ زیستی بالاتر از یک در ریشه ها به نظر می‌رسد که این گیاه در این شرایط از توانایی پایینی برای انتقال روی از ریشه به بخش هوایی برخوردار است، با این وجود، قابلیت بالایی در تجمع روی در ریشه‌ها و اجتناب از انتقال آن به بخش هوایی دارد.

واژه‌های کلیدی: پنیرک، تجمع دهندگی، تغلیظ زیستی، روی، فاکتور انتقال

مقدمه:

فلزات سنگین از جمله آلاینده های معدنی غیر قابل تجزیه هستند که یا به صورت طبیعی یا در اثر فعالیت‌های ذوب فلز، احداث معادن، استفاده از کودها و آفت‌کش‌های شیمیایی و غیره وارد محیط می شوند که حذف آنها از محیط جهت ممانعت از ورود آنها به زنجیرهای غذایی و آسیب‌های بعدی ضروری می‌باشد. آلودگی محیط با فلزات سنگین می تواند اثرات منفی فراوانی بر روی رشد و نمو و تولید مثل موجودات زنده ساکن در مناطق آلوده داشته باشد (Fritsch *et al.*, 2010).

روی یکی از فلزات سنگین با جرم اتمی ٦۵ و با وزن مخصوص ۷/۳ گرم بر سانتیمتر مکعب می باشد که در مقدار کم به عنوان ریزمغذی ضروری برای گیاهان محسوب می شود، درحالی که مقدار اضافی آن در خاک موجب اختلالات متابولیکی و در نهایت بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌گردد (Rascio and Navari-Izzo, 2011; Lin *et al.*, 2012). میزان طبیعی روی در بافت‌های گیاهی ۱۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Reeves and Baker, 2000).

امروزه توجهات فراوانی بر روی استفاده از موجودات زنده

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: p.zoufan@scu.ac.ir

نظیر قارچ‌ها، باکتری‌ها و گیاهان به عنوان یک روش دوستدار محیط زیست برای پالایش محیط از فلزات سنگین متمرکز شده است. از روش‌های مختلف گیاه پالایی (Phytoremediation) نظیر استخراج گیاهی (Phytoextraction)، تجزیه گیاهی (Phytodegradation)، فیلتراسیون ریزوسفری (Rhizofilteration)، تثبیت گیاهی (Phytostabilization) و تبخیر گیاهی (Phytovolatilization) برای پاکسازی محیط از آلاینده‌هایی مانند فلزات سنگین استفاده می‌شود (Yang *et al*., 2005; Yoshida *et al.*, 2006). گیاهان مقاوم جهت رشد در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین از سه راهکار اصلی استفاده می کنند (Baker, 1981; Ali *et al*., 2013): گونه‌های اجتناب کننده (Excluders) که از انتقال فلز به بخش هوایی ممانعت نموده، بخش عمده‌ای از فلز را در ریشه تغلیظ می‌کنند (Rascio and Navari-Izzo, 2011). درگونه‌های شاخص (Indicator) میزان فلزات سنگین در بخش هوایی آنها با غلظت عناصر مذکور در خاک یکسان است. وجود گونه های شاخص در یک منطقه به طور کلی منعکس کننده سطح فلز در خاک می‌باشد. گونه‌های تجمع دهنده (Accumulator) توانایی جذب و تجمع فلز در آلودگی‌های کم تا زیاد را دارند. گونه‌های تجمع دهنده می‌توانند عنصر خاصی را از خاک جذب و در بخش‌های هوایی خود مثل، ساقه یا برگ تغلیظ کنند، بدون اینکه علایم مسمومیت در آنها ظاهر شود. در گونه های تجمع دهنده، غلظت عنصر مورد نظر در بخش هوایی گیاه به مراتب بیشتر از خاک می‌باشد (Memon *et al*., 2001). زیر مجموعه‌ای از گیاهان تجمع دهنده گیاهان بیش تجمع دهنده (Hyperaccumulator) هستند که در استخراج گیاهی کاربرد فراوانی دارند. در واقع غلظت فلز در این گیاهان در حدود ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از غلظت فلز در گیاهان غیر تجمع دهنده است (McGrath *et a*l., 2002; Reeves, 2006). این گیاهان برای پاکسازی مناطق آلوده یا مناطقی که از لحاظ زمین شناسی غنی از یک عنصر خاص‌اند، کاربرد دارند. گیاهان بیش تجمع دهنده گیاهانی وحشی، کمیاب و بومی مناطقی هستند که در آن جا شناسایی شده‌اند (Li *et al*., 2003). در حدود ۵۰۰ گونه گیاهی بیش تجمع دهنده شناسایی شده‌اند که اکثر آنها جزء بیش تجمع دهنده های اجباری بوده، در خاک های غنی از فلز رشد می‌کنند. تعداد کمی از گیاهان بیش تجمع دهنده، تحت عنوان بیش تجمع دهندهای اختیاری که غالباً در خاک‌های طبیعی رشد می‌کنند، تنها وقتی که بر روی خا ک های غنی از فلز قرار می‌گیرند توانایی بیش تجمع دهندگی از خود نشان می‌دهند (Pollard *et al*., 2014). اکثر گیاهان بیش تجمع دهنده فلزات سنگین که تاکنون شناسایی شده اند، متعلق به خانواده شب بو (Brassicaceae)، به ویژه جنس‌های *Thlaspi* و *Alyssum* می‌باشند (Reeves and Baker, 2000). بیشتر گونه‌های بیش تجمع دهنده بومی مناطق خاص هستند و بیوماس پایینی دارند (Li *et al*., 2003) و این باعث می‌شود که اغلب مواقع علیرغم تجمع بالای فلز در بخش‌های هوایی، کارایی بالایی در پالایش خاک نداشته باشند. همچنین، بر اساس مطالعات میدانی برخی از گونه‌های گیاهی توانایی (بیش) تجمع دهندگی از خود نشان داده‌اند، اما در شرایط آزمایشگاهی این ویژگی در آنها تأیید نشده است (Rascio and Navari-Izzo, 2011). به همین جهت مطالعات فراوانی تحت شرایط کنترل شده برای مطالعه میزان جذب و تجمع فلزات سنگین در گونه‌های گیاهی مختلف انجام شده است. برای مثال، در یک مطالعه گلدانی تجمع روی توسط *Thlaspi caerulescens* ارزیابی شد (Whiting *et al*., 2001). توانایی حذف فلزات ارسنات، کادمیم، سرب و روی از خاک آلوده به این عناصر توسط چند گونه گیاهی با استفاده از کشت گلدانی مورد مقایسه قرار گرفت (Fischerova *et al*., 2006). توانایی جذب و تجمع منگنز توسط Xue و همکاران (۲۰۰٤) در بیش تجمع دهنده *Phytolacca acinosa* تحت شرایط هیدروپونیک تأیید گردید. جذب و تجمع روی و سرب در چند گونه گیاهی رشد یافته در مناطق با فعالیت معدن کاری، در کشت گلدانی جهت یافتن گونه‌های با پتانسیل بالا در پاکساری این مناطق بررسی و پیشنهاد شد که برخی از آنها می توانند برای اهداف گیاه پالایی و برخی برای تثبیت گیاهی مفید باشند (Del Rio-Celestino *et al*., 2006). با استفاده از کشت

گلدانی تجمع ارسنات و کادمیم در بیش تمجع دهنده *Solanum nigrum* L. برای کادمیم بررسی و پیشنهاد شد که احتمالاً این گیاه می‌تواند برای حذف این فلزات از خاک‌های آلوده ابزار بیولوژیکی مفیدی باشد (Sun *et al*., 2008). مطالعات جذب و تحمل کادمیم در *Lonicera japonica* Thunb در شرایط هیدروپونیک نشان داد که این گیاه یک بیش تجمع دهنده قدرتمند برای فلز کادمیم می‌باشد (Liu *et al*., 2009). پتانسیل تغلیظ و انتقال کروم و کادمیم به بخش های هوایی *Prosopis laevigata* در شرایط شیشه (*in vitro*) ارزیابی و توانایی بیش تجمع دهندگی این گیاه بیابانی برای اهداف گیاه پالایی تأیید گردید (Buendia-.Gonzalez *et al*., 2010). با مطالعات Moogouei و همکاران (۲۰۱۱) توانایی حذف و پالایش فلز سزیم از محلول غذایی توسط *Calendula alata*, *Amaranthus chlorostachys* و *Chenopodium album* مورد بررسی قرار گرفت. تجمع فلزات سنگینی نظیر کادمیم، کبالت، مس و نیکل توسط Soudek و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از محیط هیدروپونیک در *Allium sativum* L. مطالعه شد. کارایی و پتانسیل تجمع روی و کادمیم در پژوهش Hao و همکاران (۲۰۱۲) در *Helianthus annuus* L. مورد بررسی قرار گرفت. پتانسیل تجمع روی توسط *Corydalis davidii* درکشت گلدانی و هیدروپونیک مورد مطالعه واقع و به عنوان یک بیش تجمع دهنده کارا برای فلز روی و حذف آن از مناطق دارای فعالیت معدنی معرفی گردید (Lin *et al*., 2012). بنابراین با توجه به تحقیقات اشاره شده، بررسی پوشش گیاهی موجود در خاک‌های آلوده به فلز یا در مناطق دارای فعالیت صنعتی و معدن‌کاری در شناسایی گونه‌های گیاهی مناسب برای پاکسازی خاک‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار است و به دنبال این شناسایی، ارزیابی دقیق توانایی جذب فلزات سنگین توسط این گیاهان تحت شرایط گلدانی یا کشت هیدروپونیک می‌تواند جهت تأیید گونه‌های مناسب و کارا برای حذف فلز از خاک های آلوده مؤثر و مفید باشد. پنیرک یک گیاه دولپه‌ای و یکساله از خانواده Malvaceae می‌باشد که پراکندگی فراوانی در منطقه خوزستان دارد و به عنوان یک گیاه علفی خوش خوراک برای دام و انسان در این استان محسوب می‌شود. با توجه به فاکتورهای تغلیظ زیستی و انتقال بالاتر از یک برای فلز روی در گیاه پنیرک (*Malva parviflora*) بر اساس مطالعات میدانی قبلی (سعادت خواه، ۱۳۹۲) و با در نظر گرفتن این که ورود فلزات به بدنه گیاهانی که برای انسان و دام جنبه خوراکی دارند، این فلزات را به انسان منتقل می‌کند، تصمیم گرفته شد که تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی با تیمار غلظت‌های مختلف روی، میزان تجمع در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای این گونه مورد بررسی قرار گیرد تا به عنوان یک کار مقدماتی و بنیادی، از نتایج آن بتوان برای انجام آزمایشات تکمیلی در بخش فیزیولوژی گیاهی، محیط زیست و همچنین بهداشت و سلامت انسان استفاده نمود.

مواد و روش‌ها:

شرایط کشت گیاهان: با توجه به بلوغ بذر گیاه پنیرک در اواخر زمستان و اوایل بهار در خوزستان، کپسول‌های رسیده پنیرک در اوایل بهار ۱۳۹۲ از مناطق اطراف صنایع فولادسازی در جنوب شرقی اهواز، واقع در جاده بندر امام- ماهشهر که محل فعالیت چندین کارخانه تولید فولاد است، جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از ضد عفونی کردن سطحی بذرها با هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد، بذرها به مدت یک ماه در شرایط رشدی کنترل شده با دوره نوری ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی و دمای شبانه روزی $^{\circ}C$ ۲± ۲۵ کشت گلدانی شده، یک روز در میان با آب معمولی آبیاری شدند. پس از یک ماه، گیاهان به محیط کشت هیدروپونیک ۰/۱ با فرمول اصلاح شده جانسون (Siddiqi *et al*., 1990)، pH= ۵/۵-۶ ، ترکیب غذایی کامل و با مقدار ۰/۲ میکرومولار روی انتقال یافتند و پس از یک هفته سازگاری با این محیط به محلول‌های غذایی کامل حاوی غلظت‌های مختلف روی شامل (شاهد) ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار (به صورت $Zn(NO_3)_2.6H_2O$) منتقل شدند. برای تهویه مناسب محیط کشت از پمپ‌های هوادهی استفاده و جهت ممانعت از کاهش غلظت‌ها، هر سه روز یکبار، تعویض محیط کشت انجام گردید.

سنجش میزان روی درگیاه: جهت بررسی میزان تجمع فلز، گیاهان در زمان های ۰ (قبل از اعمال روی)، ۳، ٦ و ۹ روز (پس از اعمال غلظت‌های مختلف روی) به صورت T9,T6,T3,T0 برداشت شدند. به منظور حذف فلزات سنگین از سطح ریشه‌ها و فضاهای آپوپلاستی ابتدا ریشه‌ها با محلول ۰/۱مولار Na_2-EDTA و سپس دوبار با آب مقطر شسته شدند و بعد از خشک نمودن سطحی و جدا کردن بخش هوایی از ریشه‌ها، طول و وزن‌تر اندام هوایی و ریشه‌ای اندازه‌گیری شد و سپس نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵°C آون تا تثبیت وزن نهایی برای اندازه‌گیری وزن خشک و تهیه پودر خشک گیاهی قرار گرفتند. جهت سنجش میزان روی در بافت های گیاهی، عصاره‌گیری از پودر خشک بخش‌های هوایی و ریشه‌ای با استفاده از اسید نیتریک گرم ٦۵ درصد و آب اکسیژنه ۳۰ درصد انجام گرفت (Soon and Abboud, 1993). یک گرم از پودر خشک گیاهی وزن و به آن ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک ٦۵ درصد اضافه و به مدت یک شب به حال خود رها شد. سپس نمونه‌ها تا زمان تبخیر کامل اسید در دمای ۹۰°C حرارت داده شدند و پس از خنک شدن آب اکسیژنه ۳۰ درصد اضافه گردید و تا زمان شفاف شدن حرارت ادامه یافت. به دنبال هضم نمونه‌ها و صاف نمودن آنها با کاغذ واتمن شماره ٤۲، عصاره شفاف با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. به منظور اندازه‌گیری میزان فلز روی موجود در عصاره های تهیه شده از نمونه های گیاهی از دستگاه جذب اتمی (مدل Avanta GBC، ساخت کشور استرالیا) استفاده و غلظت روی به صورت میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه تعیین گردید. جهت تهیه محلول‌های استاندارد از $Zn(NO_3)_2 6H_2O$ استفاده شد.

محاسبه شاخص‌های زیستی: به منظور بررسی توانایی گیاه مورد مطالعه در جذب فلز روی، فاکتور انتقال (Translocation factor, TF)، فاکتور تغلیظ زیستی (Bioconcentration factor, BF)، شاخص تحمل ریشه (Index of tolerance, IT)، شاخص جذب (Uptake index, UI) و درصد نرخ رشد گیاه (Growth rate, GR) در محیط دارای غلظت‌های مختلف فلز روی مطابق با روابط زیر محاسبه شدند.

رابطه-۱ (Mattina *et al.*, 2003):

غلظت فلز در ریشه/غلظت فلز در اندام هوایی=TF

رابطه-۲ (Saraswet and Rai, 2009):

غلظت فلز در محیط/غلظت فلز در اندام هوایی یا ریشه =BF

رابطه-۳ (Baker, 1987):

طول ریشه درمحیط فاقد فلز/ طول ریشه در محیط دارای فلز=IT

رابطه-٤ (Aravind and Prasad, 2005):

غلظت فلز در گیاه (mg/kg DW) × وزن خشک گیاه (kg) = UI

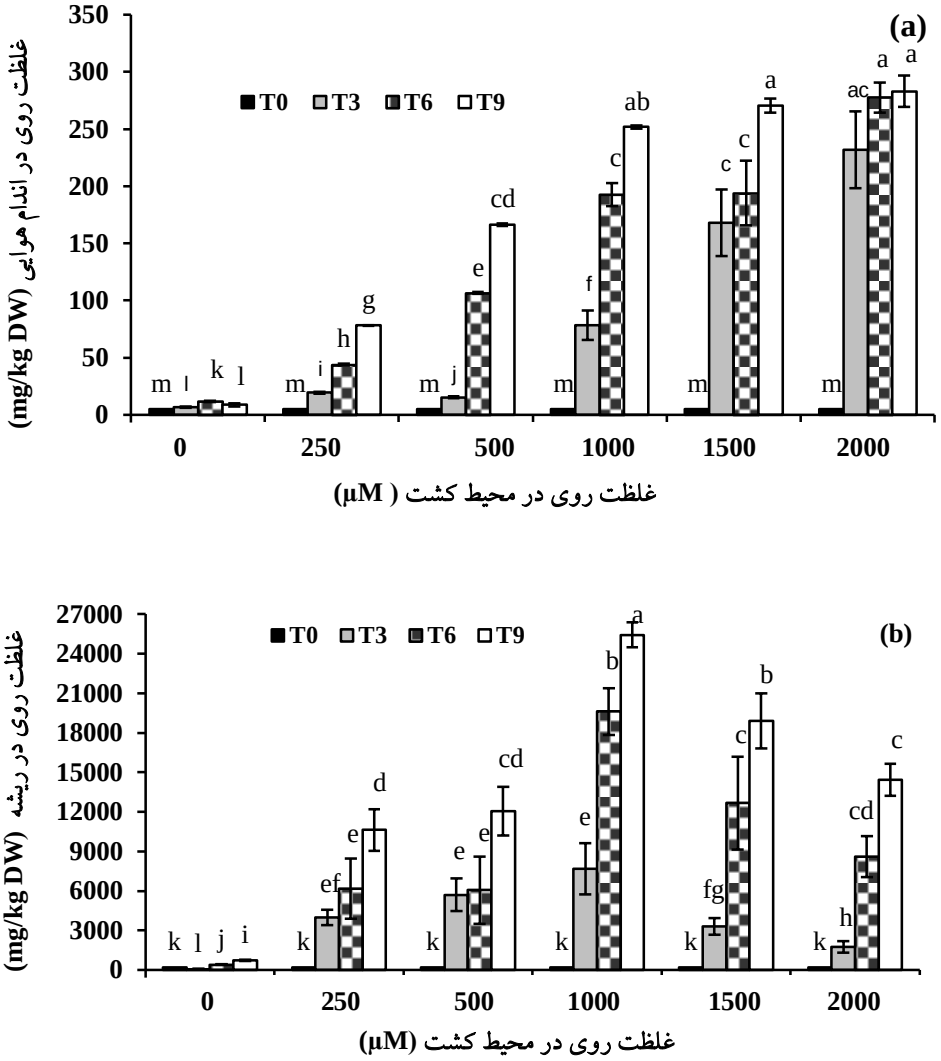
رابطه-۵ (Baker, 1987):

$$GR= \frac{\text{وزن خشک گیاه در محیط فاقد فلز}}{\text{وزن خشک گیاه در محیط دارای فلز}} \times ۱۰۰$$

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه آزمایشات در سه تکرار، آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزارSPSS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان $P < 0.05$ انجام شد.

نتایج:

در برداشت T0 گیاهانی با طول و وزن یکسان و یکنواخت انتخاب شدند، همچنین با توجه به اینکه گیاهان جهت سازگاری با شرایط هیدروپونیک و قبل از اعمال غلظت‌های مختلف روی، به مدت یک هفته در محلول غذایی با ترکیب کامل و حاوی ۰/۲ میکرومولار روی قرار گرفته بودند، بنابراین، در برداشت T0 مقادیری از روی در بافت‌های گیاهی سنجش شد که غلظت آن برای همه گیاهان تقریباً یکسان بود، بنابراین، با در نظر گرفتن طول و وزن یکسان گیاهان و حضور مقدار برابر روی در بافت‌های گیاهی در این برداشت، محاسبه شاخص‌های TF، BF، IT، UI و درصد GR انجام شد. در شکل۱ غلظت روی در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای در چهار برداشت زمانی نشان داده شده است. بر اساس شکل۱ a، صرف نظر از زمان برداشت، غلظت روی در بخش هوایی با افزایش غلظت روی در محیط، افزایش نشان داد. به استثنای



شکل۱- غلظت فلز روی برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک اندام هوایی (a) و ریشه‌ای (b) در طی برداشت‌های زمانی T0, T9,T6,T3. هر عدد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای یک حرف مشترک در سطح P <۰/۰۵ با آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

تیمار ۲۰۰۰ میکرومولار، در سایر غلظت‌ها، با طولانی شدن زمان برداشت، میزان روی در بخش هوایی بطور قابل توجهی افزایش یافت، به طوری که حداکثر میزان تجمع روی در روز نهم و حداقل آن در روز صفر پس از اعمال غلظت های مختلف روی مشاهده گردید. حداکثر میزان روی در بخش هوایی در غلظت های ۱۵۰۰(T9) و ۲۰۰۰ میکرومولار (T6، T9) به ترتیب به میزان ٦/٢ ± ٢٧٠/٤٢، ١٣ ± ٢٧٧/٧٧ و ١٣/٨ ± ٢٨٢/٩٨ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه سنجش شد. . بر اساس شکل a ۱، صرف نظر از زمان برداشت، غلظت روی در بخش هوایی با افزایش غلظت روی در محیط، افزایش نشان داد. به استثنای تیمار ۲۰۰۰ میکرومولار، در سایر غلظت ها، با طولانی شدن زمان برداشت، میزان روی در بخش هوایی بطور قابل توجهی افزایش یافت، به طوری که حداکثر میزان تجمع روی در روز نهم و حداقل آن در روز صفر پس از اعمال غلظت های مختلف روی مشاهده گردید. حداکثر میزان روی در بخش هوایی در غلظت های ۱۵۰۰(T9) و ۲۰۰۰ میکرومولار (T6، T9) به ترتیب به میزان ٦/٢ ± ٢٧٠/٤٢، ١٣ ± ٢٧٧/٧٧ و ١٣/٨ ± ٢٨٢/٩٨ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه سنجش شد. همان طور که در شکل b ۱ مشاهده می شود، غلظت در بخش ریشه ای حتی در تیمار ۲۵۰ میکرومولار به صورت معنی‌داری P <0.05 بسیار بالاتر از بخش هوایی می‌باشد. حداکثر غلظت در ریشه‌ها، در غلظت

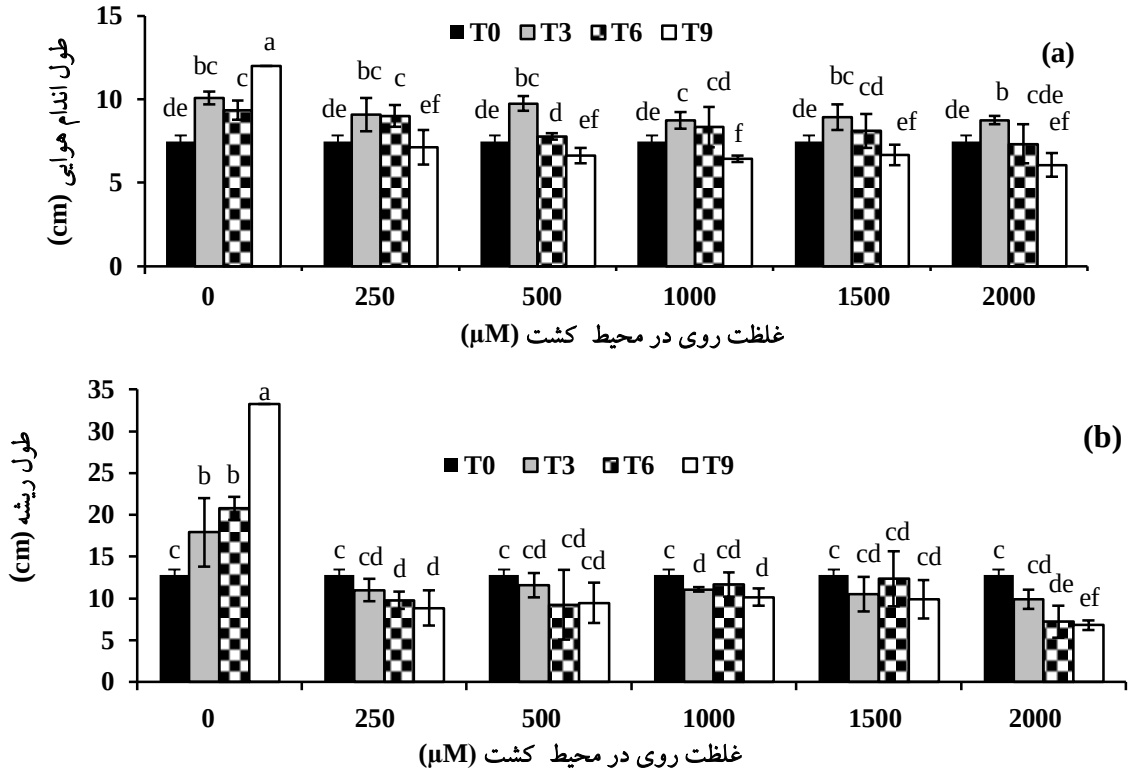
جدول۱- مقادیر فاکتورهای انتقال (TF) و تغلیظ زیستی (BF، در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای) در زمان‌های برداشت T0، T3، T6 و T9 برای گیاهان رشد یافته در غلظت‌های مختلف روی.

غلظت روی	TF					اندام هوایی BF					ریشه BF				
(µM)	T0	T3	T6	T9	mean	T0	T3	T6	T9	mean	T0	T3	T6	T9	mean
۰	۰/۰۳	۰/۲۸	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۹	—	–	–	–	–	–	–	–	–	–
۲۵۰	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۷	۰/۱۵	۰/۰۶	۰/۳۰	۰/۱۵	۲/۵٤	۲۹/٦۰	۸/۵۵	٤۰/۵۹	۲۰/۳۲
۵۰۰	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۷	۰/۰۸	۰/۰۵	۱/۲۹	۵/۱۳	٤/۱۳	۵/۹۳	٤/۱۲
۱۰۰۰	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰٤	۰/۰۵	۰/۰٤	۰/٦٤	۲/۵۰	٤/٤٤	٤/٦۱	۳/۰۵
۱۵۰۰	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰٤	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/٤۳	۰/٦۹	۱/۳۱	۱/۹۲	۱/۱۰
۲۰۰۰	۰/۰۳	۰/۰٤	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۳۲	۰/۲۵	۰/٦٦	۱/۱۱	۰/٦۷

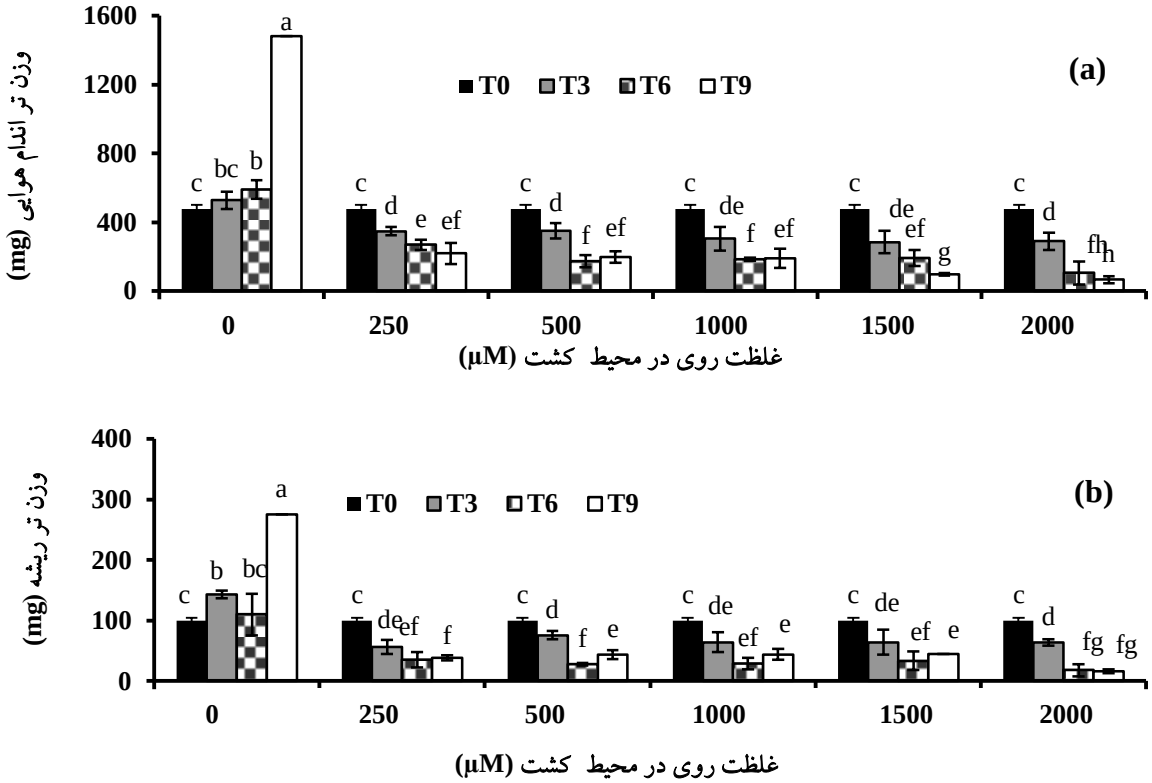
۱۰۰۰ میکرومولار و در برداشت زمانی T9 به مقدار ۹٤۳ ± ۲۵٤٤۳ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری شد. نتایج حاصل از سنجش میزان روی در بخش ریشه ای حاکی از آن است که حداکثر تجمع روی در برداشت های T3، T6 و T9 در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار وجود دارد. در تیمارهای ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ اگر چه غلظت روی در ریشه ها در مقایسه با تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار کاهش معنی داری را از خودنشان داد، اما به استثنای برداشت T3، در سایر برداشت ها همچنان غلظت روی در ریشه ها به طور معنی داری بالاتر ازغلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار سنجش شد. بین غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار در همه برداشت ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل b ۱).

مطابق با جدول۱، مقدار TF برای همه غلظت ها و در همه زمان های برداشت، کمتر از ۱ محاسبه شد. بررسی BF در بخش هوایی نشان داد که مقدار این شاخص در اندام هوایی برای همه غلظت ها کمتر از ۱ و در ریشه ها در اکثر موارد بالاتر از یک می باشد. در رابطه با BF بخش ریشه ای، به استثنای غلظت های ۱۵۰۰ میکرومولار در برداشت زمانی T0 و T3 و غلظت ۲۰۰۰ میکرومولار در برداشت زمانیT0 ، T3 و T6، در سایر موارد برای این شاخص مقادیر بیشتر از یک محاسبه گردید (جدول۱).

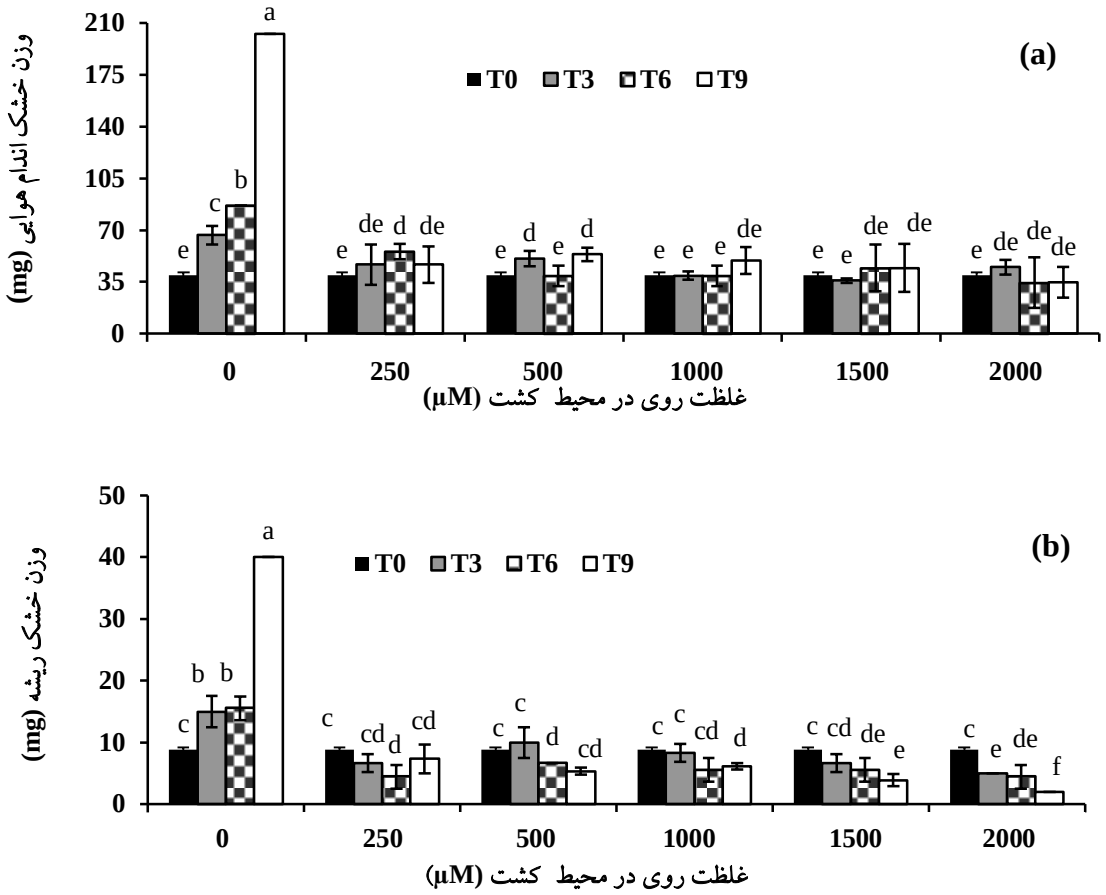
مطابق شکل۲، اندازه گیری طول اندام هوایی و ریشه ای بین زمان های مختلف T9,T6,T3,T0 در هر غلظت نشان داد که تفاوت معنی داری (P <0.05) بین آنها در اکثر موارد وجود ندارد. علاوه براین، با افزایش غلظت روی در هر زمان برداشت اختلاف معنی داری بین غلظت های مختلف برای این شاخص ها در اکثر موارد ارزیابی نشد، اما در برداشت T9 طول اندام هوایی در تمام غلظت‌ها در مقایسه با محیط فاقد روی کاهش (P <0.05) یافت (شکل a ۲). این کاهش برای ریشه ها در تمام غلظت های اعمال شده (در زمان های T9,T6,T3) نسبت به محیط شاهد (فاقد روی) معنی دار بود (شکل b ۲). همانطور که در شکل۳ مشاهده می شود، وزن تر هم در بخش هوایی و هم در ریشه در همه غلظت ها کاهش معنی داری را در مقایسه با گیاهان رشد یافته در محیط فاقد روی از خود نشان داد. این شاخص در بخش هوایی و ریشه ای در همه غلظت های اعمال شده به استثنای محیط فاقد روی با گذشت زمان در اکثر موارد از خود کاهش نشان داد که در برخی موارد در سطح$P < 0.05$ معنی داری بود. همچنین در هر تیمار غلظت و در هر برداشت زمانی، وزن تر ریشه ها بطور معنی داری (P <0.05) کمتر از بخش هوایی بود. در اندازه گیری وزن خشک بخش هوایی نتایج نشان داد که این شاخص در گیاهان رشد یافته در محیط حاوی روی کاهش معنی داری (P <0.05) در مقایسه با محیط شاهد می یابد (شکل a ٤). به استثنای محیط فاقد روی، تفاوت معنی داری (P <0.05) بین برداشت های زمانی مختلف در هر غلظت در اکثر موارد مشاهده نشد. بر اساس شکل b ٤، افزایش غلظت روی در محیط به منجر به کاهش در وزن خشک بخش ریشه ای در مقایسه با محیط فاقد روی گردید.



شکل۲- طول اندام هوایی (a) و ریشه‌ای (b) بر حسب سانتی‌متر در طی برداشت‌های زمانی T0, T9,T6,T3. هر عدد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای یک حرف مشترک در سطح ۰/۰۵> P با آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل۳- وزن تر اندام هوایی (a) و ریشه‌ای (b) بر حسب میلی گرم در طی برداشت‌های زمانی T0, T9,T6,T3. هر عدد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای یک حرف مشترک در سطح ۰/۰۵> P با آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل٤- وزن خشک اندام هوایی (a) و ریشه‌ای (b) بر حسب میلی گرم در طی برداشت‌های زمانی T0, T3,T6,T9. هر عدد میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. ستون‌های دارای یک حرف مشترک در سطح P <۰/۰۵ با آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول۲- مقادیر شاخص تحمل (IT)، شاخص جذب (UI) و درصد نرخ رشد (GR) در زمان‌های برداشت T3، T6 و T9 برای گیاهان رشد یافته در غلظت‌های مختلف روی.

غلظت روی	IT				UI				% GR			
(µm)	T3	T6	T9	mean	T3	T6	T9	mean	T3	T6	T9	mean
۰	–	–	–	–	۰/۰۰٤	۰/۰٤	۰/۱۷	۰/۰۷	–	–	–	–
۲۵۰	۰/٦٤	۰/٤۷	۰/۲۷	۰/٦	۰/۲۱	۰/۳۷	۰/۵۸	۰/۳۹	٦٤/٦۱	۵۸/۷۵	۲۲/۲۷	٤۸/۵٤
۵۰۰	۰/٦٦	۰/٤٤	۰/۲۸	۰/٤٦	۰/۳۵	۰/۲۸	۰/۷۲	۰/٤۵	۷۵/۳۵	٤٤/٦٦	۲٤/۳۳	٤۸/۱۱
۱۰۰۰	۰/٦٤	۰/۵٦	۰/۳۱	۰/۵۰	۰/۳۷	۰/۸۸	۱/٤۳	۰/۸	۵۸/۷۵	٤۳/٤۱	۲۲/۹۲	٤۱/٦۹
۱۵۰۰	۰/٦۲	۰/۵۹	۰/۳۰	۰/۵۰	۰/۱۵	۰/٦٤	۰/۹۳	۰/۵۷	۵۲/٤۵	٤۹/۰۰	۱۹/۹۳	٤۰/٤٦
۲۰۰۰	۰/۵۷	۰/۳۵	۰/۲۰	۰/۳۷	۰/۱۰	۰/۳۵	۰/۵٤	۰/۳۳	٦۱/۳٤	۳۷/۸۹	۱۵/۱۲	۳۸/۱۲

تغییرات مربوط به شاخص های تحمل (IT) و جذب (UI) و درصد نرخ رشد (GR) برای همه برداشت ها به استثنای T0 در جدول۲ ارائه شده اند. در برداشت T0 به علت آنکه هنوز تنش روی به گیاهان اعمال نشده و طول و وزن گیاهان انتخابی یکسان و پایین بود، شاخص تحمل، شاخص جذب و درصد نرخ رشد به ترتیب ۱، ۰ و ۱۰۰ محاسبه گردید. براساس جدول ۲، شاخص تحمل برای غلظت‌های مختلف روی کمتر از یک محاسبه شد، اما نسبت به سایر غلظت‌ها در غلظت‌های

۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار افزایش و در ۲۰۰۰ میکرومولار کاهش نشان داد. همچنین، در هر غلظت روی با گذشت زمان، برای این شاخص کاهش قابل توجهی محاسبه شد. بررسی شاخص UI با توجه به وزن خشک کل گیاه مشخص نمود که مقدار این شاخص برای گیاهان رشد یافته در غلظت ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار افزایش بیشتری را در مقایسه با سایر غلظت ها دارد، با این وجود حداکثر میزان آن در ۱۰۰۰ میکرو مولار سنجش شد (جدول ۲). همانطور که در جدول۲ مشاهده می شود، برای هر غلظت با گذشت زمان بویژه در برداشت T9، نرخ رشد دچار کاهش شد. متوسط مقدار این شاخص در طی سه برداشت زمانی نشان داد که با افزایش غلظت روی، نرخ رشد کاهش می یابد. علاوه براین، صرفنظر از غلظت روی و زمان برداشت، درصد این شاخص برای همه گیاهان کمتر از ۱۰۰ بدست آمد.

بحث:

فلز روی به عنوان یک فلز سنگین از جمله عناصر ریز مغذی ضروری برای رشد و نمو گیاهان است که نقش مهمی را در فعال نمودن برخی آنزیم های حیاتی گیاه از جمله کربنیک آنیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولیپازها و RNA پلیمرازها، در متابولیسم پروتئین ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی ها، در فتوسنتز و بیوسنتز اکسین ایفا می کند. با این وجود نظیر سایر فلزات سنگین، غلظت های بالای روی که عمدتا ناشی از فعالیت های انسانی است می تواند با توجه به گونه گیاهی موجب اختلال در فرایندهای رشد و نموی، متابولیکی و ایجاد سمیت در گیاه و آسیب به اکوسیستم ها شود (Rascio and Navari-Izzo, 2011; Lin *et al*., 2012). میزان طبیعی روی در بافت های گیاهی ۱۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم گزارش شده است (Reeves and Baker, 2000). با این وجود گیاهان بیش تجمع دهنده روی قادر هستند که بیش از ۱۰۰۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم وزن خشک در بخش های هوایی خود تغلیظ کنند، بدون اینکه علائم سمیت در آنها ظاهر شود (Salt *et al*., 1995) که در این رابطه می توان به *Thlaspi Arabidopsis halleri, Viola calaminaria caerulescens,* و چند گونه متعلق به جنس *Thlaspi* (Sarret *et al*., 2002) و *Corydalis davidii* (Lin *et al*., 2012) اشاره نمود. مطابق تعریف یک گیاه بیش تجمع دهنده با چهار ویژگی مشخص می شود : (۱) داشتن توانایی بالا در تغلیظ فلز در بخش هوایی بیش از حد آستانه غلظت یک فلز در گیاهان، به عنوان مثال حد آستانه برای فلز روی بیش از ۱۰۰۰۰ میلی گرم روی در کیلوگرم وزن خشک می باشد (Salt *et al*., 1995). (۲) داشتن شاخص TF بالاتر از یک (Vogel-Mikus *et al*., 2005)، (۳) داشتن شاخص BF بیشتر از یک (Brooks *et al*., 1998) و (٤) برخورداری از قدرت تحمل بالا برای رشد در غلظت های بالای فلز، بدون ظهور علائم سمیت و تنوع در ارئه پاسخ در مقابله با چنین تنشی (Sun *et al*., 2008). بررسی میزان روی در پنیرک (جمعیت جمع آوری شده از اطراف صنایع فولاد سازی) در این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت روی در محیط و همچنین طولانی شدن زمان برداشت منجر به تجمع روی در بخش هوایی بویژه در گیاهان رشد یافته در غلظت ۲۰۰۰ میکرومولار حداکثر تا ۱۳/۸ ± ۲۸۲/۹۸ میلی گرم در کیلوگرم می شود (شکل a ۱)، که بیشتر از میزان طبیعی روی در بافت های گیاهی است، با این حال، مقدار آن از حد آستانه تعریف شده برای یک گیاه بیش تجمع دهنده روی بسیار کمتر است. فاکتورهای TF و BF شاخص های مهمی برای ارزیابی جذب و توانایی حذف فلزات سنگین از محیط در گیاه پالایی می باشند (Bose *et al*, 2008). بررسی مقدار TF و BF اندام هوایی (جدول ۱) نشان می دهد که احتمالا گیاه فاقد توانایی انتقال روی از بخش ریشه ای به بخش هوایی است و قادر به تغلیظ روی از محلول غذایی در بخش های هوایی نمی باشد. در ریشه ها، تجمع فوق العاده بالاتری از روی در مقایسه با اندام های هوایی مشاهده شد که حداکثر میزان آن در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار در همه زمان های برداشت سنجش گردید (شکل b ۱). ضمن اینکه، با توجه به مقادیر BF بخش های ریشه ای که در اکثر موارد بالاتر از یک محاسبه شد، به نظر می رسد که این گیاه با تغلیظ روی در ریشه ها از انتقال آن به بخش های هوایی ممانعت می نماید. افزایش معنی دار میزان

یک فلز در ریشه ها نسبت به بخش هوایی، حاکی از غیر متحرک شدن آن در سلول های ریشه، TF کمتر از یک و ارائه یک استراتژی اجتناب می باشد (Baker, 1981). بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه، تصور می شود که پنیرک، از انتقال روی به بخش هوایی (احتمالاً جهت حفاظت فعالیت‌های مهم متابولیکی موجود در برگ‌ها) ممانعت نموده، منجر به تجمع غلظت های بسیار بالایی از این فلز در ریشه‌ها می‌گردد. بررسی میزان تجمع فلز در غلظت های مختلف روی در برخی از گونه های جنس *Populus* نشان داد که اساسا ریشه ها قابلیت بالاتری در مقایسه با اندام‌های هوایی در تجمع روی دارند و احتمالا برای تحمل غلظت‌های سمی روی پاسخ اجتناب از انتقال روی به بخش‌های هوایی را از خود ارائه می دهند (Vollenwieder *et a*l., 2011; Fernandez *et al*., 2012). در گیاهان بیش تجمع دهنده میزان انتقال و تجمع فلز در بخش هوایی افزایش خیلی بیشتری را در مقایسه با ریشه ها نشان می دهد. برای مثال، در بیش تجمع دهنده *Sedum alfredii*، افزایش غلظت روی در محیط منجر به به افزایش معنی‌داری از این فلز در اندام‌های هوایی در مقایسه با ریشه‌ها گردید (Sun *et al*., 2005). در بررسی میزان روی در شرایط کنترل شده، گیاه *Potentilla griffithii* به عنوان یک بیش تجمع دهنده روی که توانایی بالایی در تحمل و تجمع این فلز در بخش هوایی دارد، معرفی شده است (Hu *et al*., 2009). در پژوهش فوق مشخص شد که با افزایش غلظت روی در محیط، میزان تجمع فلز در بخش هوایی *Potentilla griffithii* بالاتر از ریشه‌ها و قابلیت انتقال روی از ریشه به بخش هوایی بزرگتر از یک می‌باشد. ارزیابی میزان تجمع روی با استفاده از کشت گلدانی و هیدروپونیک در گیاه *Corydalis davidii* نشان داد که با افزایش غلظت روی در محیط، توانایی این گیاه هم برای جذب روی از محیط و هم برای انتقال از ریشه‌ها به اندام های هوایی افزایش می‌یابد، همچنین تجمع بسیار بالاتری از این فلز در بخش‌های هوایی در مقایسه با ریشه‌ها و محیط مشاهده می‌شود و بنابراین این گونه می‌تواند به عنوان یک بیش تجمع دهنده روی در پاکسازی مناطق آلوده به این فلز مفید باشد (Lin *et al*., 2012).

اندازه‌گیری طول، وزن تر و خشک بخش‌های هوایی و ریشه ای گیاهان رشد یافته در غلظت‌های مختلف روی کاهش معنی داری را از خود در مقایسه با محیط فاقد روی نشان داد (شکل۲، ۳، ٤)، ضمن اینکه کاهش بیوماس در ریشه‌ها در مقایسه با بخش هوایی شدیدتر بود. علاوه براین، در برداشت روز نهم زرد شدن برگ‌ها نیز مشاهده گردید. به نظر می‌رسد که در شرایط کمبود یا فقر روی، گیاه از ذخایر درون سلولی یا مکانیسم‌هایی جهت محلول سازی اشکال کمتر محلول تر برای افزایش قابلیت دسترسی به روی استفاده می‌نماید (Whiting *et al*., 2001)، به همین دلیل احتمالاً در طی دوره زمانی پژوهش کنونی، افزایش معنی داری در شاخص های رشدی گیاهان رشد یافته در شرایط فاقد روی در مقایسه با سایر غلظت‌ها به دست آمد. کاهش رشد گیاه به ویژه کاهش رشد و تغییرات مورفولوژیکی ریشه‌ها و همچنین کاهش میزان کلروفیل در اثر غلظت‌های بالای روی در سایر گونه‌ها نیز گزارش شده است (Miretzky *et al*., 2006; Broadley *et al*., 2007; Mateos-Naranjio *et al*., 2008; Galdelas *et al*., 2011; Fernandez *et al*., 2012). کاهش بیشتر در رشد ریشه ها نسبت به اندام‌های هوایی در برخی از ارقام *Populus* تیمار شده با غلظت‌های بالای روی، به اثرات سمی روی در ممانعت یا کاهش انتقال مواد فتوسنتزی از اندام‌های هوایی به ریشه‌ها نسبت داده شده است (Fernandez *et al*., 2012). زردی برگ ها در اثر کاهش سنتز کلروفیل در تیمار با غلظت‌های سمی روی، به کمبود منگنز و جایگزینی روی در مسیر بیوسنتزی کلروفیل نسبت داده شده است (Sagardoy *et al*., 2009). غلظت‌های بالای روی از طریق کاهش جذب و قابلیت دسترسی ریشه‌ها به سایر عناصر غذایی به ویژه آهن و منگنز باعث کمبود این عناصر برای گیاه می‌شوند (Fernandez *et al*., 2012). به نظر می‌رسد که علت عدم تغییر ویژگی‌های رشدی مانند بیوماس و میزان رشد ریشه‌ها و اندام‌های هوایی در غلظت‌های بالای یک فلز سنگین در گیاهان بیش تجمع دهنده، برخورداری از توانایی تحمل بالا در مواجه با تنش مذکور باشد (Yang *et al*., 2005; Lin *et al*., 2012). در یک مطالعه در رابطه با تاثیر افزایش غلظت کادمیم بر طول، وزن تر و خشک

ریشه و بخش هوایی در گیاه بیش تجمع دهنده *Lonicera japonica*، هیچ تفاوت معنی‌داری با گیاهان رشد یافته در محیط شاهد گزارش نشد (Liu *et a*l., 2009). در بیش تجمع دهنده *Potentilla griffithii*، غلظت‌های بالای روی باعث افزایش معنی‌دار بیوماس، علیرغم تجمع بالای روی در بخش هوایی شد (Hu *et al*., 2009). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، اگر چه متوسط شاخص تحمل (IT) در گیاهان رشد یافته در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار نسبت به سایر غلظت‌ها از خود افزایش نشان داد (جدول ۲)، اما این افزایش در مقایسه با گیاهانی که توانایی (بیش) تجمع دهندگی را از خود در شرایط آزمایشگاهی نشان داده اند (Deng *et al*., 2007; Liu *et al*., 2009; Fernandez *et al*., 2012) کمتر می‌باشد. میزان این شاخص برای چنین گیاهانی بالاتر از یک است. معمولاً بیوماس و IT، می توانند نقش مهمی را در شناسایی یک گیاه (بیش) تجمع دهنده از خود ارائه نمایند. به عبارت دیگر در یک گیاه (بیش) تجمع دهنده، نباید بیوماس و مقدار IT در غلظت های آستانه فلز که منجر به کاهش رشد اکثریت گیاهان می‌شود، کاهش قابل توجهی را نشان دهند (Ernst and Nelissen, 2000). بنابراین، با توجه به کاهش وزن تر و خشک بخش‌های هوایی و ریشه ای در این جمعیت پنیرک و همچنین کاهش IT در غلظت‌های مختلف روی در طی دوره آزمایشی (۹ روز)، تصور می‌شود که این گیاه از قدرت تحمل پایینی برای رشد در چنین غلظت‌هایی، به ویژه در غلظت ۲۰۰۰ میکرو مولار برخوردار است و نمی‌تواند به عنوان یک گیاه (بیش) تجمع دهنده روی مطرح باشد. با این وجود، تصور می‌شود که علت افزایش IT در گیاهان رشد یافته در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار نسبت به سایر غلظت‌ها با توجه به یافته‌های Hu و همکاران (۲۰۰۹)، تجمع بالای روی در ریشه‌های این گیاهان و.ممانعت از انتقال به بخش‌های هوایی و در نتیجه حفاظت بخش‌های هوایی از آسیب‌های ناش از تجمع فلز در برابر سمیت روی و در نهایت ارائه تحمل مناسب تر در این شرایط باشد. با بررسی شاخص جذب (UI) با توجه به وزن خشک کل گیاه، بیشترین میزان این شاخص برای گیاهان رشد یافته در غلظت ۱۰۰۰ میکرو مولار محاسبه شد که این احتمالاً به دلیل تجمع بالاتر روی در ریشه‌ها در این غلظت در مقایسه با سایر تیمارها است. همچنین، با ارزیابی این شاخص بر اساس وزن خشک ریشه و غلظت روی در ریشه، حداکثر مقدار برای گیاهان رشد یافته در ۱۰۰۰ میکرومولار بویژه در برداشت های T9 وT6 محاسبه گردید (نتایج ارائه نشده اند). در گیاه بیش تجمع دهنده *Prosopis laevigata* مشخص شد که نرخ رشد حتی بعد از ۵۰ روز در معرض قرار گرفتن با کادمیم بیش از ۵۰ درصد است (Buendia-Gonzalez *et al*., 2010). در طی دوره زمانی این مطالعه (۹ روز)، متوسط شاخص رشد با افزایش غلظت روی و همچنین در هر غلظت با گذشت زمان کاهش یافت که به نظر می‌رسد ناشی از کاهش وزن خشک گیاه در این غلظت ها نسبت به شرایط شاهد باشد.

نتیجه‌گیری کلی:

در یک جمع بندی کلی بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق بر روی پنیرک (*Malva parviflora*) به عنوان یک جمعیت جمع آوری شده از مناطق اطراف صنایع فولاد سازی شهر اهواز و با توجه به کاهش شاخص های TF، BF بخش هوایی، IT، نرخ رشد و بیوماس با افزایش غلظت روی در محیط در دوره زمانی آزمایش، به نظر می‌رسد که این گیاه از توانایی بالایی در تغلیظ روی در بخش هوایی، حداقل در این شرایط آزمایشی برخوردار نمی‌باشد، اما با توجه به افزایش معنی‌دار BF بخش ریشه‌ای و تجمع بالای روی در ریشه‌ها، تصور می شود که گیاه فوق با ممانعت از انتقال روی به بخش‌های هوایی از مکانیسم اجتناب برای تحمل غلظت‌های بالای روی استفاده نموده است.

تشکر و قدردانی:

این مطالعه با استفاده از هزینه پژوهانه مربوط به دانشجویان کارشناسی ارشد (سال ۱۳۹۲) انجام شد. نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای فراهم نمودن تسهیلات مالی لازم جهت انجام این پژوهش قدرانی می‌نمایند.

منابع:

سعادت خواه، ع. (۱۳۹۲) تاثیر تجمع فلزات سنگین نیکل، منگنز، روی، آهن و سرب بر روی برخی شاخص های بیوشیمیایی در پوشش گیاهی موجود در منطقه اطاف صنایع فولادسازی در اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

Ali, H., Khan, E. and Sajad, M. A. (2013) Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications .Chemosphere 91: 869–881.

Aravind, P. and Prasad, M. N. V. (2005) Cadmium-Zinc interaction in hydroponic system using *Ceratophyllum demersum* L.: adaptive echophysiology, biochemistry and molecular toxicology. Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 3-20.

Baker, A. J. M. (1981) Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. Journal of Plant Nutrition. 3: 643-654.

Baker, A. J. M. (1987) Metal tolerance. New Phytologist 106: 93-111.

Brooks, R. R., Chambers, M. F., Nicks, L. J. and Robinson, R. H. (1998). Phytomining. Trends in Plant Science 3: 359-362.

Bose, S., Chandrayan, S., Ria, V., Bhatacharyya, A. K. and Ramanathan, A. L. (2008) Translocation of metals in pea plants grown on various amendent of electroplating industrial sludge. Bioresource Tecehnology 99: 4467-4475.

Broadley, M . R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I. and Lux, A. (2007) Zinc in plants. New Phytologist 173: 677-702.

Buendia-Gonzalez, L., Orozco-Villafuerte, J., Cruz-Sosa, F., Barrera-Diaz, C. E.. and Vernon-Carter, E. J. (2010) *Prosopis laevigata* a potential chromium (VI) and cadmium (II) hyperaccumulator desert plant. Bioresource Technology 101: 5862-5868.

Del Rio-Celestino, M., Font, R., Moreno-Rojas, R. and De Haro-Bailon, A. (2006). Uptake of lead and zinc by wild plants growing on contaminated soils. Industrial Crops and Products 24: 230-237.

Deng, D. M., Shu, W. S., Zhang, J., Zou, H. L., Lin, Z., Ye, Z. H. and Wong, M. H. (2007) Zinc and cadmium accumulation and tolerance in populations of *Sedum alferedii*. Environmental Pollution 147: 381-386.

Ernst, W. H. O. and Nelissen, H. J. M. (2000) Life-cycle phases of a zinc- and cadmium resistant ecotype of *Silene vulgaris* in risk assessment of polymetallic mine soils. Environmental Pollution 107: 329-338.

Fernandez, J., Zacchini, M. and Fleck, I. (2012) Photosynthetic and growth responses of *Populus* clones Eridano and I-214 submitted to elevated Zn concentrations. Journal of Geochemical Exploration 123: 77-86.

Fischerova, Z., Tlustos, P., Szakkova, J. and Sichorova, K. (2006). A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace element. Environmental Pollution 144: 93-100.

Fritsch, C., Giraudoux, P., Coeurdassier, M., Douay, F., Raoul, F., Pruvot, C., Waterlot, C., de Vaufleury, A. and Scheifler, R. (2010). Spatial distribution of metals in smelter impacted soils of woody habitats: influence of landscape and soil properties and risk for wildlife. Chemosphere 81:141-155.

Galdelas, C., Dong, S., Araus, J. L., and Weiss, D. J. (2011) Zinc isotopic fractionation in *Phragmites australis* in response to toxic levels of zinc. Gournal of Experimental Botany 62: 2169-2178.

Hao, X. Z., Zhou, D. M. Li, D. D. and Jiang, P. (2012) Growth, cadmium and zinc accumulation of ornamental sunflower (*Helianthus annuus* L.) in contaminated soil with different amendments. Pedosphere 22: 631-639.

Hu, P. J., Qiu, R. L., Senthilkumar, P., Jiang, D., Chen, Z. W., Tang, Y. T. and Liu, F. J. (2009) Tolerance, accumulation and distribution of zinc and cadmium in hyperaccumulator *Potentilla griffithii*. Environmental and Experimental Botany 66: 317-325.

Li, Y. M., Chaney, R., Brewer, E., Roseberg, R., Angle, J. S., Baker, A. J. M.., Reeves, R. D. and Nelkin, J. (2003) Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. Plant and Soil 249: 107-115.

Lin, W., Xiao, T., Wu, Y., Ao, Z. and Ning, Z. (2012) Hyperaccumulation of zinc by *Corydalis davidii* in Zn-polluted soils. Chemosphere 86: 837-842 .

Liu, Z., He, X., Chen, W., Yuan, F., Yan, K. and Tao, D. (2009) Accumulation and tolerance characteristics of cadmium in a potential hyperaccumulator-*Lonicera japonica* Thunb. Journal of Hazardous Materials 169: 170-175.

McGrath, S. P., Zhao, F. J. and Lombi, E. (2002). Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides. Advances in Agronomy 75: 1-56.

Mateos-Naranjo, E., Renondo-Gomez, S., Cambroll, J., Luque, T. and Figueroa, M. E. (2008) Growth and photosynthesis responses to zinc stress of an invasive cordgrass, *Spartina densiflora*. Plant Biology 10: 754-762.

Mattina, M. J. I., Lannucci-Berger, W., Musante, C. and White, J. C. (2003) Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil. Environmental Pollution 124:375-378.

Memon, A., Aktoprakligil, D., Ozdemir, A. and Vertii, A. (2001) Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. Turkish Journal of Botany 25: 111-121.

Miretzky, P., Saralegui, A. and Cirelli, A. F. (2006) Simultaneous heavy metal removal mechanism by dead macrophytes. Chemosphere 62: 247-54.

Moogouei, R., Borghei, M. and Arjmandi, R. (2011) Phytoremediation of stable Cs from solutions by

Siddiqi, M. Y., Glass, A. D. M., Ruth, T. J. and Rufty, T. (1990) Studies of the uptake of nitrate in barley: I. Kinetics of $^{13}NO_3$ influx. Plant Physiology 93: 1426-1432.

Sun, Q., Ye, Z. H., Wang, X. R. and Wong, M. H. (2005) Increase of glutathione in mine population of *Sedum alfredii*: a Zn hyperaccumulator and Pb accumulator. Phytochemisrtry 66: 2549-2556.

Sun, Y. B., Zhou, Q. X. and Diao, C. (2008) Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. Bioresource Technology 99: 1103-1110.

Vogel-Mikus, K., Drobne, D. and Regvar, M. (2005) Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. Environmental Pollution 133: 233-242.

Vollenwieder, P., Menard, T. and Gunthardt-Georg, M. S. (2011) Compartmentation of metals in foliage of *Populus tremula* grown on soils with mixed contamination. I. From the tree crown to leaf cell level. Environmental Pollution 159: 324-336.

Whiting, S. N., Jonathan, R. L., McGrath, S. P. and Baker, A. J. M. (2001) Zinc accumulation by *Thlaspi caerulescens* from soils with different Zn availability: a pot study. Plant and Soil 236: 11-18.

Xue, S. G., Chen, Y. X. Reeves, R. D. and Baker, A. J. M. (2004) Manganese uptake and accumulation by the hyperaccumulator plant Phytolacca acinosa Roxb. (Phytolaceae). Environmental Pollution 131: 393-399.

Yang, X., Feng, Y., He, Z. and Stoffella, P. J. (2005) Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 18: 339-353.

Yoshida, N., Ikeda, R. and Okuno, T. (2006) Identification and characterization of heavy metal-resistant unicellular alga isolated from soil and its potential for phytoremediation. Bioresource Tecehnology 97: 1843-1849.

Calendula alata, *Amaranthus chlorostachys* and *Chenopodium album*. Ecotoxicology and Environmental Safety 74: 2036-2039.

Pollard, A. J., Reeves, R. D. and Baker, A. J. M. (2014) Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. Plant Science 217-218: 8-17.

Rascio, N. and Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? Plant Science 180: 169-181.

Reeves, R. D. (2006). Hyperaccumulation of trace elements by plants. In: Phytoremediation of metal-contaminated soils , NATO Science Series: IV: Earth and Environmental Sciences. (eds. Morel, J. L., Echevaria, G. and Goncharova, N.) Pp. 1-25. Springer, New York.

Reeves, R. D. and Baker, A, J, M. (2000). Metal-accumulating plants. In: Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment. (eds. Raskin, I. and Ensley, B. D.) Pp. 193-229. John Wiley and Sons, New York.

Sagardoy, R., Morales, F., Lopez-Millan, A. F., Abadia, A. and Abadia, J. (2009) Effects of zinc toxicity in suger beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. Plant Biology 11: 577-588.

Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P. B. A., Dushenkov, V., Enaley, B. D., Chet, I. and Raskin, I. (1995) Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. Nature Biotechnology 13: 468-474.

Saraswet, S. and Rai, J. P. N. (2009) Phytoextraction potential of six plant species grown in multimetal contaminated soil. Chemistry and Ecology 25: 1-11.

Sarret, G., Saumitou-Laprade, P., Bert, V., Proux, O., Hazemann, J. L., Traverse, A., Marcus, M. A. and Manceau, A. (2002). Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. Plant Physiology 130: 1815-1826.

Soon, Y. K. and Abboud, S. (1993) Cadmium, Chromium, Lead and Nickel. In: Soil sampling and methods of analysis. (ed. Carter, M. R.) Pp. 101-109. Lewis Publishers CRC, Boca Raton.

Soudek, P., Petrova, S. and Vanek, T. (2011) Heavy metal uptake and stress responses of hydroponically cultivated garlic (*Allium sativum* L.). Environmental and Experimental Botany 74: 289-295.