



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست بوم گیاهان"

دوره ششم، شماره دوازدهم، بهار و تابستان ۹۷

<http://pec.gonbad.ac.ir>

توان پالایش سرب دو گونه خردل اتیوپی (*Brassica carinata*) و هندی (*Brassica*

junceae)

زهرا سلیمان نژاد^۱، احمد عبدالزاده^{۲*}، حمیدرضا صادقی پور^۳ و مسعود گلعلی پور^۴

^۱ دانشجوی دکتری زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

^۲ استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

^۳ دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان

^۴ استادیار مرکز تحقیقات پزشکی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۷

چکیده

خردل اتیوپی و هندی متعلق به خانواده شب بو بوده و محصول روغنی مهم می باشند، خردل اتیوپی گیاهی با سیستم ریشه ای عمیق، مقاوم به خشکی و گرما بوده و خردل هندی یک گیاه امیدبخش برای گیاه بالایی فلز می باشد. بر این اساس توان جذب، تحمل و پالایش سرب توسط این دو گونه رشد یافته در خاک آلوده مورد مطالعه قرار گرفت. گیاهان در گلخانه در خاک های آلوده شده با غلظت های ۱۵، ۳۰ و ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب رشد یافتند و پس از ۷ هفته، جهت سنجش برخی پارامترها از جمله طول، وزن خشک، سطح برگ ویژه، رنگی های فتوسنتزی و غلظت سرب برداشت شدند. هر دو گونه شاخص تحمل تنش بالایی را نسبت به سرب نشان دادند. همچنین تیمارهای سرب بر طول، وزن خشک ریشه و بخش هوایی و سطح برگ ویژه هیچ یک از دو گیاه خردل اثر معنی داری نداشت. اگر چه رنگی های فتوسنتزی در گیاه خردل اتیوپی تحت تأثیر تیمارهای سرب قرار نگرفتند، میزان کلروفیل ها و کاروتنوئیدها در خردل هندی تحت تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب کاهش یافت. با افزایش سطح آلودگی سرب در خاک، غلظت سرب ریشه هر دو گیاه به طور معنی داری افزایش یافت، به طوری که نسبت غلظت سرب ریشه به خاک (فاکتور تغلیظ زیستی) زیاد شد. غلظت سرب بخش هوایی در خردل اتیوپی تحت تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت معنی داری افزایش یافت که به ترتیب در شاهد و تیمار ۶۰۰ سرب این میزان ۷ و ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود، هر چند در سایر تیمارها تغییر معنی داری نداشت. فاکتور انتقال سرب به بخش هوایی در هر دو گیاه کم بود. بنابراین هر دو گیاه خردل اتیوپی و هندی با توجه به زیست توده،

* نویسنده مسئول: ah_ab99@yahoo.com

شاخص تحمل تنش، غلظت سرب ریشه زیاد و در نتیجه فاکتور تغلیظ زیستی بالا، می‌توانند جهت تثبیت سرب خاک‌های آلوده و پاک‌سازی این خاک‌ها در مناطق شهری و صنعتی مفید باشند.
واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، زیست پالایی، سرب، شب‌بو، تحمل

مقدمه

امروزه یکی از چالش‌های اساسی در زمینه محیط‌زیست، افزایش تدریجی غلظت فلزات سنگین در خاک می‌باشد. عدم تجزیه‌پذیری فلزات سنگین از طریق فرآیندهای شیمیایی یا زیستی، تهدیدی برای سلامتی گیاهان و جانورانی است که در سطوح مختلف چرخه غذایی حضور دارند (توکلی‌محمدی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Saha and Hossain, 2011). آلودگی محیط به این فلزات معمولاً نتیجه فعالیت‌های صنعتی از قبیل استخراج معادن، تصفیه فلزات، بخارات آگروزها، تولیدات انرژی و سوخت، کاربرد کودها و سموم و بازیافت زباله‌های شهری می‌باشد (Kabata-Pendias and Pendias, 2001). با توجه به روند رو به رشد جمعیت دنیا از سویی و افزایش تدریجی میزان آلودگی‌های محیط‌زیست و به دنبال آن نابودی بخش مهمی از خاک‌های کشاورزی، چالش‌های اساسی و جدی دنیا در دهه آینده بر سر موضوع مهم امنیت غذایی از جنبه‌های کمی و کیفی آن خواهد بود.

سرب عمومی‌ترین عنصر سنگین آلوده‌کننده محیط‌زیست می‌باشد (Watanabe, 1997) و به دلیل پراکنش گسترده در جوامع شهری و صنعتی به‌ویژه در مناطق دفن زباله‌ها، کنار جاده‌ها و بزرگراه‌ها و خطر بالقوه‌ی آن برای محیط‌زیست، سلامت انسان‌ها و حیوانات، منشأ نگرانی‌های متعددی گردیده است (Lone et al., 2008). معمولاً غلظت سرب در خاک بین ۱ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر است و میانگین غلظت آن ۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (Asadi Kapourchal et al., 2009). از اثرات سمی سرب در انسان می‌توان اختلال بیوسنتز هموگلوبین و کم‌خونی، افزایش فشار خون، آسیب به کلیه، سقط جنین و نارسای نوزاد، اختلال سیستم عصبی، آسیب به مغز، ناباروری مردان، کاهش قدرت یادگیری و اختلالات رفتاری در کودکان ذکر کرد (Yang et al., 2004).

تنش‌های محیطی همچون فلزات سنگین بر رشد و نمو، ساختار فیزیولوژیک گیاه، سنتز پروتئین‌ها، فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، تنفس و متابولیسم سلولی تأثیر دارند. سرب یکی از فلزات سنگین غیرضروری برای گیاهان است که اعمال بیولوژیکی آن ناشناخته می‌باشد و به‌عنوان یکی از عناصر کم-تحرک شناخته شده است، اما در صورت وجود فرم‌های محلول در محیط، ریشه گیاه قادر خواهد بود مقادیر زیادی از آن را جذب کند (Kabata-pendias and Pendias, 2000). این عنصر به‌شدت در خاک‌های کشاورزی افزایش یافته و آنجا را آلوده می‌کند (Hamid et al., 2010)، افزایش غلظت آن

در خاک می‌تواند سبب مسمومیت گیاه، زردی برگ‌های جوان، کاهش جذب برخی عناصر ضروری، کاهش فتوسنتز و فعالیت‌های داخل سلول می‌گردد (Larbi et al., 2003). یکی از دلایل سمیت سرب به علت تشابه ساختار یونی کلسیم با سرب بوده و به همین علت یون سرب بسیاری از جنبه‌های رفتاری کلسیم را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند. در گیاهان آثار مسمومیت با سرب معمولاً در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکروگرم بر گرم در برگ ظاهر شده و به کاهش سنتز کلروفیل و کاهش رشد رویشی منجر می‌شود (Ruley et al., 2004).

مطالعات نشان داده است که گیاهان در برابر آلودگی ناشی از سرب واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. برخی از گونه‌های گیاهی حساس بوده و عده‌ای دیگر مقادیر زیادی از این فلز سنگین را جذب و تحمل می‌نمایند (Oliver and Naidu, 2003). تحمل به فلز در گیاهان به صورت توانایی زنده ماندن در خاکی که برای گیاهان دیگر سمی است، تعریف شده و به واسطه‌ی برهم‌کنش بین ژنوتیپ گیاه و محیط بروز می‌یابد (McNair et al., 2000). گیاهان متحمل می‌توانند به عنوان ابزاری مفید در گیاه‌پالایی سرب مورد استفاده قرار گیرند. فن‌آوری گیاه‌پالایی می‌تواند به صورت تثبیت گیاهی برای محدود کردن آلاینده‌ها و یا به صورت استخراج و تبخیر گیاهی در حذف آلاینده‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Thangavel and Subburam, 2004).

خردل هندی گیاهی از تیره شب‌بو است که دارای رشد سریع بوده و حتی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین قابلیت تولید زیست توده بالا را دارا می‌باشد. تاکنون مطالعات زیادی در مورد اثرات فلزات سنگین از جمله تنش کادمیوم (Qadir et al., 2004; Anjum et al., 2008) و آرسنیک (Gupta et al., 2008) در این گیاه انجام شده است. همچنین لیو و همکاران (Liu et al., 2000) اشاره نمودند که خردل هندی می‌تواند سطوح بالایی از سرب و دیگر فلزات سنگین را تجمع دهد. خردل اتیوپی نیز گیاهی علفی یک‌ساله از تیره شب‌بو، با سیستم ریشه‌ای عمیق، مقاوم به خشکی و گرما می‌باشد. کوارتاسی و همکاران (Quartacci et al., 2007) نشان دادند که خردل اتیوپی در بین نه گونه مورد بررسی، بالاترین مقدار فلزات (آرسنیک، کادمیوم، مس، سرب و روی) را بدون کاهش معنی‌دار توده زیستی بخش هوایی انباشته نمود.

با توجه به این‌که گیاه خردل اتیوپی گیاهی روغنی با استفاده خوراکی و غیرخوراکی برای تولید بیودیزل می‌باشد و با شرایط نامساعدی نظیر خاک رسی، شنی، آب و هوای نیمه‌خشک و دمای هوای بالا سازگار بوده و در شرایط نامطلوب محیطی دارای عملکرد زراعی بهتری نسبت به *Brassica*

napus می‌باشد (Cardone et al., 2003). در این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف سرب خاک بر روی صفات رشد، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نهایت میزان تجمع فلز سرب در دو گونه خردل اتیوپی و هندی مورد بررسی قرار گرفت تا توان پالایش سرب خاک‌های آلوده توسط خردل اتیوپی به‌عنوان گیاهی سازگار با شرایط نامساعد محیطی با خردل هندی مدل برای گیاه‌پالایی مقایسه گردد.

مواد و روش‌ها

شرایط کاشت: بذر دو گونه خردل اتیوپی و هندی از مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی استان مازندران تهیه شد. بذرهای ضدعفونی شده پس از سه روز جوانه‌زنی در پتری دیش، در اوایل فروردین ماه سال ۱۳۹۴ به گلدان‌های پلاستیکی سه کیلوگرمی پر شده از خاک (۳ عدد در هر گلدان) منتقل و در گلخانه‌ای با پوشش سقف و دیواره پلاستیکی برای جلوگیری از نفوذ باران و با دو طرف فضای آزاد جهت جریان هوای کافی، کشت شدند. جهت آماده‌سازی خاک، ابتدا به میزان ۱۰۰ کیلوگرم خاک زراعی و غیرآلوده اطراف شهرستان نکا جمع‌آوری گردید (مقدار استاندارد آلودگی سرب در خاک‌های کشاورزی در pH کمتر از ۵۰، ۷ و در pH بیشتر از ۷، ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد). برای ایجاد آلودگی سرب در خاک به‌طور مصنوعی از غلظت‌های ۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب، به‌صورت نمک کلرید سرب استفاده شد. نمک هر گلدان به‌طور مجزا در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به‌صورت لایه لایه به سطح خاک اسپری شده و خاک هر گلدان جداگانه و به‌طور یکنواخت مخلوط شد. خاک‌های آلوده دو بار در هفته با حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر آب آبیاری شده و جهت تثبیت و تعادل اجزای خاک و فلز سرب و همسان‌سازی شرایط آلودگی مصنوعی با شرایط آلودگی طبیعی به‌مدت سه ماه در شرایط هوای آزاد قرار داده شد (Khodaverdiloo et al., 2012). خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک براساس روش‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین گردید (جدول ۱). برای تعیین بافت خاک از روش هیدرومتری (Gee and Bauder, 1986)، درصد کل مواد خنثی شونده و کربن آلی با روش تیتراسیون (Nelson, 1982)، هدایت الکتریکی خاک با دستگاه هدایت‌سنج (Rhoades, 1996)، pH در عصاره اشباع توسط pH متر (Thomas, 1996)، نیتروژن کل خاک به روش کج‌دال (Bremner, 1996)، فسفر قابل جذب به روش اولسن (Kuo, 1996)، پتاسیم قابل جذب به روش استات آمونیوم

نرمال در عصاره اشباع (Helmke and spark, 1996) و غلظت سرب پس از هضم اسیدی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل GBC-932 AA اندازه‌گیری شد. در طول دوره آزمایش اغلب روزها هوا آفتابی بوده و میانگین حداکثر و حداقل دمای روز و شب در گلخانه به ترتیب ۲۹ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۸۱٪ بود. آبیاری گلدان‌ها به صورت یک روز در میان و به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر در طول دوره رشد، با آب شهری انجام شده و گیاهان پس از ۷ هفته (در آغاز فاز زایش) جهت سنجش برخی خصوصیات رشدی برداشت شدند.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این پژوهش

مقدار	مشخصه	مقدار	مشخصه
۰/۱۲	N%	رسی	بافت خاک
۲	P (mg Kg ⁻¹)	۴۷	رس (%)
۱۵۷/۴	K (mg Kg ⁻¹)	۳۹	سیلت (%)
۱۱/۹۸	Fe (mg Kg ⁻¹)	۱۴	ماسه (%)
۰/۵۱	Zn (mg Kg ⁻¹)	۷/۵۲	pH
۲/۲	Cu (mg Kg ⁻¹)	۱/۱۱	EC (dSm ⁻¹)
۱/۸۷	Mn (mg Kg ⁻¹)	۱۳/۷۷	TNV%
۱۵	Pb (mg Kg ⁻¹)	۱/۲۲	OC%

اندازه‌گیری صفات رشد: پس از برداشت، ابتدا ریشه گیاهان با آب شسته شده و سپس آب سطحی ریشه‌ها با دستمال کاغذی گرفته شد. بعد از آن ریشه از بخش هوایی جدا گردید و طول و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و مجدداً توزین شدند.

به منظور تعیین شاخص برگ ویژه، از هر گیاه سه برگ (از قسمت‌های مختلف پایین، میانه و بالا) جدا شده و پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در درجه حرارت ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شدند. جهت اندازه‌گیری سطح برگ از نرم‌افزار ImageJ استفاده شد و سپس سطح برگ ویژه (SLA) بر حسب سانتی‌متر مربع بر گرم تعیین گردید (Arias, 2007) (فرمول

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{سطح برگ ویژه} = \frac{\text{سطح برگ}}{\text{وزن خشک برگ}}$$

اندازه‌گیری شاخص تحمل: برای ارزیابی تحمل گونه‌ها به فلزات سنگین، شاخص تحمل (Stress tolerance) (TOL) از فرمول پیشنهادی رزیل و هامبلین (Rosielle and Hamblin, 1981) (فرمول ۲) و شاخص تحمل تنش (Stress tolerance index) از فرمول پیشنهادی فرناندز (Fernandez, 1992) (فرمول ۳) محاسبه شد.

رابطه ۲ $\text{وزن خشک تیمار} - \text{وزن خشک شاهد} = \text{شاخص تحمل}$

رابطه ۳ $\text{شاخص تحمل تنش} = \frac{\text{وزن خشک تیمار} \times \text{وزن خشک شاهد برگرفته}}{(\text{میانگین وزن خشک شاهد دو گونه})}$

سنجش غلظت سرب: برای استخراج سرب میزان ۰/۱ گرم از وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاهان به‌منظور حذف ترکیبات آلی به‌مدت ۸ ساعت در داخل کوره در دمای ۵۷۵ درجه سانتی‌گراد سوزانده شد و غلظت سرب بعد از هضم اسیدی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل GBC Avanta ver.1.33 اندازه‌گیری شد.

به‌منظور ارزیابی پتانسیل استخراج گیاهان، فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بخش هوایی و ریشه گیاه با استفاده از فرمول ۴ محاسبه گردید که C نشان‌دهنده غلظت سرب می‌باشد (Bini et al., 1995).

رابطه ۴ $\text{غلظت فلز بخش هوایی} = \frac{\text{غلظت فلز بخش هوایی}}{\text{غلظت فلز خاک}} = \text{فاکتور تغلیظ زیستی بخش هوایی}$

$\text{غلظت فلز ریشه} = \frac{\text{غلظت فلز ریشه}}{\text{غلظت فلز خاک}} = \text{فاکتور تغلیظ زیستی ریشه}$

جهت ارزیابی توانایی گیاه در انتقال سرب از ریشه به بخش هوایی، فاکتور انتقال (TF) سرب طبق فرمول (۵) محاسبه گردید.

رابطه ۵ $\text{غلظت فلز بخش هوایی} = \frac{\text{غلظت فلز بخش هوایی}}{\text{غلظت فلز ریشه}} = \text{فاکتور انتقال}$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید: برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تر گیاه با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ سائیده شد و سپس مخلوط به‌دست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰g سانتریفیوژ گردید و از فاز فوقانی جهت سنجش کلروفیل و کاروتنوئید استفاده شد.

تجزیه آماری: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد (هر گلدان به‌عنوان یک تکرار می‌باشد). فاکتور اول سطوح سرب و فاکتور دوم پارامترهای موردنظر در

گونه‌های مورد مطالعه بود. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

ارزیابی صفات رشد: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که به‌جز اثر گونه در طول ریشه و وزن خشک بخش هوایی، اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب \times گونه در هیچ‌یک از صفات رشد معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمارهای سرب اثر معنی‌داری در هیچ‌یک از صفات رشد مورد بررسی گیاه خردل اتیوپی و خردل هندی در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب × گونه بر برخی صفات رشد

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول بخش هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک بخش هوایی	سطح برگ ویژه برگ پایینی	سطح برگ ویژه برگ میانی	سطح برگ ویژه برگ بالایی
سرب	۲	$14/76^{ns}$	$74/14^{ns}$	$0/01^{ns}$	$0/05^{ns}$	$2258/25^{ns}$	$521/40^{ns}$	$6676/20^{ns}$
گونه	۱	$114/15^{**}$	$2/84^{ns}$	$0/00^{ns}$	$0/25^{**}$	$3469/44^{ns}$	$1419/20^{ns}$	$0/36^{ns}$
سرب × گونه	۲	$7/05^{ns}$	$13/65^{ns}$	$0/04^{ns}$	$0/01^{ns}$	$980/57^{ns}$	$2826/78^{ns}$	$1529/43^{ns}$
خطا	۱۲	$11/27$	$100/72$	$0/03$	$0/03$	$1758/63$	$2965/18$	$4157/78$
کل	۱۷							

^{ns} و ^{*} به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی دار بودن می باشند.

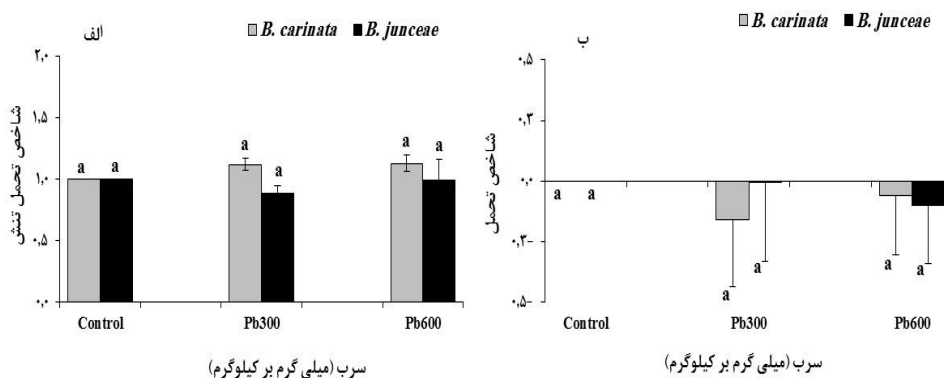
جدول ۳- مقایسه میانگین برخی صفات رشد در دو گیاه *B.juncea* و *B.carinata* رشد یافته در خاک آلوده شده با سطوح مختلف سرب. میانگین \pm خطای

استاندارد با ۳ تکرار، میانگین های هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.

<i>B.juncea</i>			<i>B.carinata</i>			صفات رشد
غلظت سرب خاک (mg kg ⁻¹)			غلظت سرب خاک (mg kg ⁻¹)			
۶۰۰	۳۰۰	۱۵	۶۰۰	۳۰۰	۱۵	
bc	۲۷/۰±۹/۷ ^c	abc	ab	۳۴/۲±۴/۸ ^{ab}	a	طول ریشه (cm)
۲۸/۱±۵/۸		۳۲/۱±۷/۱	۳۴/۰±۵/۵		۳۵/۳±۳/۱	
۳۴/۱۰±۶/۰ ^a	۳۰/۶±۷/۳ ^a	۲۶/۱±۱/۸ ^a	۳۵/۴±۱/۸ ^a	۲۸/۴±۸/۵ ^a	۳۰/۱±۳/۹ ^a	طول بخش هوایی (cm)
۰/۸±۰/۱ ^a	۰/۰±۷/۰ ^a	۰/۰±۹/۱ ^a	۰/۰±۷/۱ ^a	۰/۰±۸/۱ ^a	۰/۰±۸/۱ ^a	وزن خشک ریشه (g Plant ⁻¹)
۱/۰±۲/۱ ^{ab}	۱/۰±۲/۱ ^{ab}	۱/۰±۰/۱ ^b	۱/۰±۴/۱ ^a	۱/۰±۴/۱ ^a	ab	وزن خشک بخش هوایی (g Plant ⁻¹)
					۱/۰±۳/۰	
۱۲۲/۱۶±۰/۱ ^a	۱۶۱/۲۹±۹/۷ ^a	۱۵۲/۲۱±۵/۴ ^a	۱۵۵/۳۴±۷/۲ ^a	۱۶۱/۱۹±۶/۳ ^a	۲۰۲/۱۹±۳/۵ ^a	سطح برگ ویژه برگ پائینی (m ² g ⁻¹)
۱۶۵/۱۳±۵/۳ ^a	a	۱۵۳/۳۹±۶/۹ ^a	۱۴۲/۲۹±۵/۲ ^a	۱۴۲/۱۰±۷/۷ ^a	a	سطح برگ ویژه برگ میانی (m ² g ⁻¹)
	۲۰۰/۴۷±۹/۷				۱۸۱/۶±۳۰/۲	
۱۴۴/۱۷±۳/۳ ^a	۱۸۷/۲۸±۸/۹ ^a	۲۱۴/۴۱±۹/۸ ^a	۱۷۰/۴۰±۰/۴ ^a	۱۵۲/۲±۲۲/۵ ^a	۲۲۵/۶±۵۷/۳ ^a	سطح برگ ویژه برگ بالایی (m ² g ⁻¹)

ارزیابی بردباری گیاهان به تنش سرب: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب × گونه در شاخص تحمل تنش معنی دار نبود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که هر دو گیاه خردل اتیوپی و خردل هندی STI زیادی را نسبت به سرب نشان دادند (شکل ۱). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب × گونه در شاخص تحمل معنی دار نبود (جدول ۴). همچنین تیمارهای سرب اثر معنی داری در TOL، هر دو گیاه خردل اتیوپی و خردل هندی در مقایسه با شاهد نداشت (شکل ۱).

اثر سرب در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر سرب و گونه در کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید معنی دار بود، ولی اثر متقابل سرب × گونه در هیچ-یک از رنگیزه‌های فتوسنتزی دو گیاه معنی دار نبود (جدول ۴). سطوح مختلف آلودگی سرب اثر معنی داری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه خردل اتیوپی در مقایسه با شاهد نداشت، ولی در گیاه خردل هندی در مقایسه با شاهد، تیمار ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سرب منجر به کاهش معنی دار میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل گردید و همچنین کاهش میزان کاروتنوئید تحت تیمارهای ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سرب مشاهده شد (جدول ۵).



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سرب در شاخص تحمل تنش (الف) و شاخص تحمل (ب) دو گونه *B. carinata* و *B. juncea* میله‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد، در هر نمودار، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب × گونه بر شاخص تحمل و رنگیزه‌های فتوسنتزی

منابع تغییرات	درجه آزادی	شاخص تحمل تنش	شاخص تحمل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
سرب	۲	۰/۰۰۸۱ ^{ns}	۰/۰۱۲۲ ^{ns}	۰/۰۱۵۲ ^{**}	۰/۰۰۲۶ [*]	۰/۰۲۹۸ ^{**}	۰/۶۳۱۵ [*]
گونه	۱	۰/۰۷۴۰ ^{ns}	۰/۰۰۶۰ ^{ns}	۰/۰۳۹۲ ^{**}	۰/۰۰۹۳ [*]	۰/۰۸۹۶ ^{**}	۴/۱۸۵۶ ^{**}
سرب × گونه	۲	۰/۰۲۱۱ ^{ns}	۰/۰۱۶۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ⁿ	۰/۰۰۰۹ ^{ns}	۰/۳۴۷۳ ^{ns}
خطا	۱۲	۰/۰۲۰۰	۰/۱۴۰۱	۰/۰۰۲۵	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۴۵	۰/۱۶۰۷
کل	۱۷						

*, ** و ^{ns} به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی‌دار بودن می‌باشند.

جدول ۵- مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی (میلی گرم بر گرم وزن تر) دو گیاه خردل اتیوپی و خردل هندی رشد یافته در سطوح مختلف سرب

گیاه	غلظت سرب در خاک (mg kg ⁻¹)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
<i>B. carinata</i>	۱۵	۰/۳۳ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۱۵	۰/۴۸ ± ۰/۰۲ ^a	۲/۹۵ ± ۰/۲۰ ^a
	۳۰۰	۰/۲۹	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۴۴ ± ۰/۰۴ ^a	۳/۱۲ ± ۰/۲۴ ^a
	۶۰۰	۰/۲۴	۰/۱۲	۰/۳۶ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۲/۴۴ ± ۰/۲۳ ^a
<i>B. juncea</i>	۱۵	۰/۲۴	۰/۱۲	۰/۳۷	۲/۳۹ ± ۰/۲۰ ^a
	۳۰۰	۰/۲۰	۰/۰۹	۰/۲۹	۱/۶۲ ± ۰/۱۶ ^b
	۶۰۰	۰/۱۳ ± ۰/۰۲ ^c	۰/۰۷	۰/۲۰ ±	۱/۶۰ ± ۰/۳۱ ^b

میانگین ± خطای استاندارد با ۳ تکرار، میانگین‌های هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

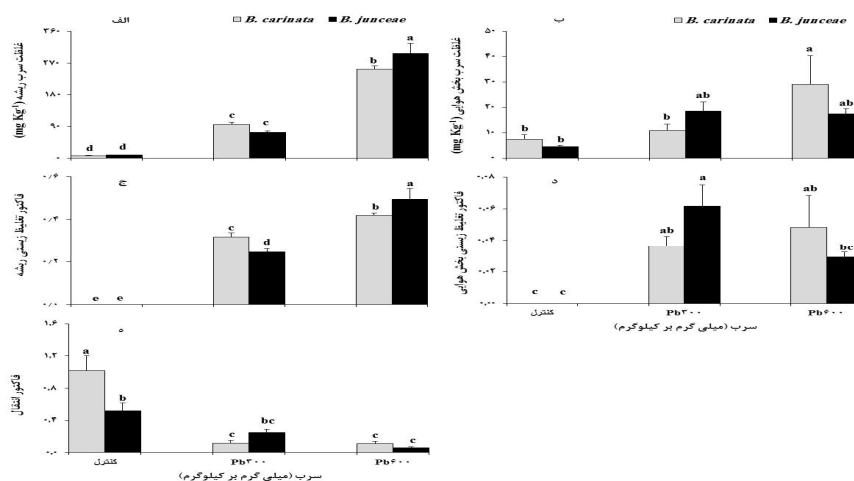
میزان انباشت سرب در گیاهان: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر سرب بر تمامی پارامترهای مرتبط با غلظت و اثر متقابل سرب × گونه در فاکتور تغلیظ زیستی ریشه و فاکتور انتقال معنی‌دار بود. همچنین اثر گونه بر هیچ‌یک از پارامترهای مرتبط با غلظت معنی‌دار نبود (جدول ۶). با افزایش غلظت آلودگی سرب در خاک، غلظت سرب و فاکتور تغلیظ زیستی در ریشه هر دو گیاه افزایش یافت. به‌طوری‌که در آلودگی بالای سرب در مقایسه با تیمار ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، غلظت سرب ریشه

به ترتیب در خردل اتیوپی و هندی به میزان ۲/۶ و ۴ برابر افزایش یافت. افزایش آلودگی سرب در خاک اثر معنی داری در میزان سرب بخش هوایی خردل اتیوپی (به جزء تیمار ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سرب) و خردل هندی در

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس دوطرفه اثر سرب، گونه و اثر متقابل سرب × گونه بر غلظت سرب، فاکتور تغلیظ زیستی و فاکتور انتقال

منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت سرب ریشه	غلظت سرب بخش هوایی	فاکتور تغلیظ زیستی ریشه	فاکتور تغلیظ زیستی بخش هوایی	فاکتور انتقال
سرب	۲	۱۱۳۰۰۳/۴۴۷**	۴۴۷/۳۹۹**	۰/۳۲۰**	۰/۰۰۴**	۰/۸۲۳**
گونه	۱	۳۰۵/۵۳۹ ^{ns}	۲۳/۰۷۴ ^{ns}	۰/۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۸۸ ^{ns}
سرب × گونه	۲	۱۷۳۱/۸۳۷ ^{ns}	۱۳۷/۱۶۸ ^{ns}	۰/۰۰۹*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۱۵۵**
خطا	۱۲	۵۱۴/۸۳۸	۷۷/۱۶۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰	۰/۰۲۳
کل	۱۷					

*, ** و ^{ns} به ترتیب نشان دهنده معنی دار بودن در سطح ۱٪، ۵٪ و غیرمعنی دار بودن می باشند.



شکل ۲- اثر غلظت های مختلف سرب خاک در غلظت سرب ریشه (الف)، بخش هوایی (ب)، فاکتور تغلیظ زیستی ریشه (ج) و بخش هوایی (د) و فاکتور انتقال (ه) دو گیاه *B. carinata* و *B. juncea* میله ها نشان دهنده خطای استاندارد می باشد، در هر نمودار، میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.

مقایسه با شاهد نداشت. تیمار شاهد هر دو گیاه بالاترین میزان فاکتور انتقال را نشان داد و بیشترین تغلیظ زیستی بخش هوایی تحت تیمار ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم سرب در گیاه خردل هندی مشاهده گردید (شکل ۲).

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که تیمارهای سرب اثر معنی داری در هیچ یک از صفات رشد مورد بررسی گیاه خردل اتیوپی و هندی نداشت. اسدی کپورچال و همکاران (Asadi Kapourchal et al., 2009) نیز نشان دادند که تحت غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سرب در خاک، هیچ گونه علائم مسمومیت در گیاه تربچه (*Raphanus sativus*) مشاهده نشد. همچنین در این مطالعه فقط ۰/۳۷٪ از کل سرب خاک در دسترس گیاه بوده است و انباشت سرب در ریشه و بخش هوایی گیاه تربچه به ترتیب به میزان ۲۰۸ و ۲۷/۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است. با توجه به این که بالای لوک و همکاران (Blaylock et al., 1997) اشاره نموده اند که pH بالاتر از ۷/۵ حلالیت سرب را کاهش می دهد، لذا احتمال دارد در تحقیق حاضر به علت pH بالای خاک، حلالیت و در دسترس بودن سرب کم بوده و میزان انباشت سرب تحت تیمار ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در گیاهان مورد مطالعه حاضر تقریباً مشابه تربچه بوده است. در نتایجی مشابه، بگونیا و همکاران (Begonia et al., 1998) گزارش کردند که در خردل هندی که به عنوان یک گیاه مدل در روش گیاه پالایی مطرح است، در حضور غلظت های مختلف سرب (۱۰۰-۰ میلی گرم در لیتر) تفاوت معنی داری در سطح کل برگ، وزن تر و خشک ریشه و ساقه نسبت به شاهد مشاهده نشد. در چندین پژوهش افزایش توده زیستی گیاه با استفاده از غلظت کم آلاینده های فلزی گزارش شده است (Breckle, 1991).

در مقایسه ارزیابی تحمل، هر دو گیاه خردل اتیوپی و خردل هندی شاخص تحمل تنش بالایی را نسبت به سرب نشان دادند. فرناندز (Fernandes, 1992) مشخص کرد که ژنوتیپ های پایدارتر دارای مقادیر بالاتر شاخص تحمل تنش هستند. همچنین هر دو گیاه خردل اتیوپی و هندی شاخص تحمل پایینی را نسبت به سرب نشان دادند. رزیل و هامبلین (Rosielle and Hamblin, 1981) نیز اشاره نمودند که مقدار بالای شاخص تحمل نشانه حساسیت ژنوتیپ به تنش است، بنابراین انتخاب ژنوتیپ ها براساس مقادیر پایین شاخص تحمل می باشد. چندین مکانیسم برای مقاومت گیاهان به یون های فلزی سمی ارائه شده است. تعدادی از این مکانیسم ها شامل اتصال به دیواره سلولی، کاهش انتقال از عرض غشای پلاسمایی، انتشار به آپوپلاست، تشکیل کمپلکس در سیتوپلاسم و انتقال و تجمع در واکوئل می باشد (Hall, 2002; Rengel, 1997). به نظر می رسد که سازگاری خردل هندی نسبت به افزایش

غلظت فلزات سنگین با توسعه مکانیسم‌های ذخیره‌سازی واکوئلی کارآمد باشد (Meyers et al., 2009).

سطوح مختلف آلودگی سرب اثر معنی‌داری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه خردل اتیوپی نداشت، عدم کاهش میزان کلروفیل را می‌توان به مکانیسم‌های دفاعی مختلف نظیر بخش‌بندی فلز سنگین در واکوئل یا آپوپلاست، توسط گیاه در مقابل تنش فلزات نسبت داد. تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب منجر به کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه خردل هندی گردید. جون و همکاران (John et al., 2009) نشان دادند که غلظت‌های صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب طی مدت ۴۰ روز تیماردهی، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کل و کاروتنوئیدهای خردل هندی را در مرحله گلدهی افزایش داد، اما با تداوم شرایط تنش و گذشت زمان، میزان این رنگیزه‌ها کاهش یافت. کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تیمار سرب می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف سنتز کلروفیل و رنگیزه‌های دیگر باشد. تجزیه زیستی کلروفیل نیز در حضور فلزات سنگین از عوامل مهم کاهش کلروفیل محسوب می‌شود (Hegedus et al., 2001). توقف فعالیت آنزیم کلیدی بیوسنتز کلروفیل یعنی اسید دلتا-آمینولولولینیک دهیدروژناز در اثر یون‌های سرب در محیط گزارش شده است که سبب کاهش میزان کلروفیل می‌گردد (Prasad and Prasad, 1987). همچنین احتمال دارد سرب ساخته شدن کلروفیل را از طریق کاهش جذب عناصر ضروری نظیر منیزیم و آهن متوقف کرده (Burzynski, 1987) و با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از تجزیه کلروفیل را نیز افزایش دهد (Drazkiewicz, 1994).

مقدار سرب جذب شده از خاک توسط ریشه بستگی به ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاهان مانند نوع گیاه، سن و سیستم ریشه و ویژگی‌های فیزیوشیمیایی خاک مانند ظرفیت تبادل کاتیون، محتوای کربنات کلسیم، ماده آلی، pH و غلظت فسفر دارد (Jarvis and Leuang, 2002). نتایج حاضر نشان داد که با افزایش غلظت آلودگی سرب در محیط، تجمع سرب در ریشه گیاه افزایش یافته و میزان آن در ریشه بسیار بیشتر از بخش هوایی بوده است که نشان‌دهنده‌ی تحرک کم این فلز و انتقال ناچیز آن به بخش هوایی می‌باشد (Zimdahl, 1975). بگونیا و همکاران (Begonia et al., 1998) نیز نشان دادند که خردل هندی به دلیل تولید توده زیستی بالا گونه مؤثری در پالایش سرب می‌باشد، ولی ۹۵٪ از سرب در ریشه آن انباشته می‌شود. مطالعه انجام شده در گونه مرتعی (*Kochia prostate* (L.) اطراف کارخانه سیمان فیروزکوه نشان داد که میزان سرب در اندام زیرزمینی این گیاه بیشتر از اندام

هوایی بوده است (منتظری و همکاران، ۱۳۹۵). در این راستا اوگوکانل و همکاران (Ogunkunl and Fatoba, 2014) در تحقیقاتشان بر روی گونه تاج خروس نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. انباشتگی سرب در ریشه یکی از سازوکارهای تحمل برخی گونه‌ها محسوب می‌شود. در این گیاهان بخش اعظم سرب جذب شده متصل به دیواره سلولی باقی می‌ماند (Marschner, 1995). بیان شده است که فرآیند اصلی مسئول برای تجمع سرب در ریشه، ته‌نشینی سرب خصوصاً به‌صورت پیروفسفات در طول دیواره سلولی می‌باشد (Chaney and Ryan, 1993). همچنین گروهی از محققین بر این باورند که استفاده از مکانیسم‌های درون سلولی در گیاهان، سرب را در داخل واکوئل سلول‌های ریشه مهار کرده و از حرکت و خروج آن از ریشه به سمت آوندهای چوبی ممانعت می‌نماید (Lasat, 2002).

نتایج مربوط به جذب فلزات نشان می‌دهد که تحمل و انتقال فلز از ریشه به بخش هوایی اغلب همبستگی منفی داشته و حفظ فلز در ریشه با افزایش تحمل همراه است (Harmens et al., 1993).

در این تحقیق، میزان بیوماس ریشه و بخش هوایی هر دو گونه خردل اتیوپی و هندی با افزایش آلودگی سرب خاک در مقایسه با گیاه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به اثر میزان بیوماس گیاه بر میزان جذب کلی فلزات سنگین، کارآیی جذب سرب در خاک‌های آلوده کاهش نیافت و با افزایش آلودگی سرب در خاک میزان غلظت سرب و تغلیظ زیستی در ریشه هر دو گونه افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد ممانعت از انتقال سرب به اندام‌های هوایی یکی از دلایل تحمل گیاه خردل اتیوپی و هندی نسبت به غلظت‌های سمی سرب بوده و نشان‌دهنده نقش ریشه در نگهداری سرب اضافی می‌باشد. فن‌آوری گیاه‌پالایی برحسب نوع آلاینده‌ها، شرایط منطقه، درجه‌ی اصلاح مور نیاز و گونه‌ی گیاهی می‌تواند به‌صورت تثبیت گیاهی جهت محدود کردن آلاینده‌ها و یا به‌صورت استخراج گیاهی جهت حذف آلاینده‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Thangavel and Subhram, 2004). با توجه به این‌که ویژگی اختصاصی گیاهان مناسب برای استفاده در تثبیت گیاهی، تحمل غلظت‌های بالای فلزات سنگین، تولید مقادیر زیاد زیست توده‌ی ریشه‌ای و ناتوانی گیاه در انتقال مقادیر زیاد آلاینده‌های فلزی از ریشه به اندام هوایی می‌باشد (Ghosh and Singh, 2005)، همراه با مدنظر قرار دادن یافته یون و همکاران (Yoon et al., 2006) در خصوص این‌که گیاهان دارای فاکتور تغلیظ زیستی ریشه بالا و فاکتور انتقال پایین از توانایی تثبیت فلزات سنگین برخوردارند، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که هر دو گیاه خردل اتیوپی و هندی با توجه به زیست توده، شاخص تحمل تنش، غلظت سرب ریشه زیاد و نسبت سرب ریشه به خاک بالا (فاکتور تغلیظ زیستی) جهت پالایش خاک‌های آلوده به سرب مفید

خواهند بود. از سوی دیگر، اگر استفاده از این دو گیاه با هدف استخراج گیاهی باشد، نتیجه این تحقیق نشان داد که در آلودگی بالای سرب گیاه خردل اتیوپی در مقایسه با خردل هندی به دلیل غلظت سرب و فاکتور تغلیظ زیستی بخش هوایی بیشتر و عدم کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی دارای عملکرد بهتری می‌باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش با کمک مالی شماره ۹۵۰۶۰۴ ستاد توسعه زیست فناوری و ۹۵۸۵۰۰۶۰ صندوق حمایت از پژوهش‌گران و فن‌آوران کشور انجام شده است.

منابع

توکلی محمدی، م.، خدادادی، ا.، پرتانی، ص.، مرزبان، م. ۱۳۹۰. بررسی منابع آلاینده فلزات سنگین در استان زنجان با استفاده از GIS. سی‌امین همایش علوم زمین، تهران، ۹-۱.
منتظری، ف.، تمرتاش، ر.، طاطیان، م. ر.، حجتی، س. م. ۱۳۹۵. بررسی غلظت سرب، روی و مس در خاک و گونه مرتعی. *Kochia prostrata* (L.) Schrad. در اطراف کارخانه سیمان فیروزکوه، نشریه حفاظت زیست‌بوم گیاهان، ۸: ۱۴۵-۱۵۸.

- Anjum, N.A., Umar, S., Ahmad, A., Iqbal, M. 2008. Responses of Components of Antioxidant System in Moongbean Genotypes to Cadmium Stress. *Commun. Soil Science and Plant Analysis*, 39: 2469-2483.
- Arias, D. 2007. Calibration of LAI -2000 to Estimate Leaf Area Index and Assessment of its Relationship with stand productivity in six Native and Introduced tree Species in costarica. *Forest Ecology and Management*, 247: 85-193.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Asadi Kapourchal, S., Asadi Kapourchal, S., Pazira, E., Homaei, M. 2009. Assessing radish (*Raphanus sativus* L.) potential for phytoremediation of lead-polluted soils resulting from air pollution. *Plant, Soil and Environment*, 55 (5): 202-206.
- 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 con-

- taminated soil. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 60: 38-43.
- Bini, C., Gentili, L., Maleci-Bini., Vaselli, O. 1995. Trace elements in plants and soil of urban parks. Annexed to Contaminated soil prost, INRA, Paris.
- Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I. 1997. Enhanced Accumulation of Pb in Indian Mustard by Soil-Applied Chelating Agents. Environmental Science and Technology, 31(3): 860-865.
- Breckle, C.W. 1991. Growth under heavy metals. In Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U., eds. Plant roots: the hidden half. New York, NY: Marcel Dekker, 351-373.
- Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. In Sparks, D.L. et al., Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 1085-1122.
- Burzynski, M. 1987. The influence of lead calcium on absorption and reduction of K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} and Fe^{2+} in cucumber seedlings. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 53: 77-86.
- Cardone, M., Mazzoncini, M., Menini, S., Rocco, V., Senatore, A., Seggiani, M., Vitolo, S. 2003. *Brassica carinata* as an alternative oil crop for the production of biodiesel in Italy: agronomic evaluation, fuel production by transesterification and characterization. Biomass and Bioenergy, 25: 623-636.
- Chaney, R.L., Ryan, J.A. 1993. Heavy metals and toxic organic pollutants in MSW composts: research results on phytoavailability, bioavailability, fate, etc. In: Hoitink, H.A.J., Keener, H.M., (Eds.) Science and Engineering of Composting. Renaissance Press, Worthington, OH, 451-506.
- Drazkiewicz, M. 1994. Chlorophyll- occurrence, functions, mechanism of action effects of internal and external factors. Photosynthetica, 30: 321-331.
- Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C.G., (Eds.) Proceedings of a Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress. AVRDC Publications, Tainan, Taiwan, 257-270.
- Gee, G.W., Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysis. In: Klute, A., (Eds.) Methods of soil analysis, part 1. SSSA, 383-411.
- Ghosh, M., Singh, S.P. 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its by-products. Applied Ecology and Environmental Research, 3: 1-18.

- Gupta, M., Sharma, P., Sarin, N.B., Sinha, A.K. 2009. Differential response of arsenic stress in two varieties of *Brassica juncea* L. Chemosphere, 74: 1201-1208.
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany, 53: 1-11.
- Hamid, N., Bukhari, N., Jawaed, F. 2010. Physiological responses of *Phaseolus vulgaris* to different lead concentrations. Pakistan Journal of Botany, 42(1): 239- 246.
- Harmens, H., Hartog, P.R.D., Bookum, W.M.T., Verkleij, J.A.C. 1993. Increased zinc tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garkle is not due to increased production of phytochelatins. Plant Physiology, 103: 1305-1309.
- Hegedus, A., Erdel, S., Horvath, G. 2001. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barely seedling under lead stress. Plant Science, 160: 1085-1093.
- Helmke, P.H., Spark, D.L. 1996. Potassium. 551-574. In: Sparks, D.L., (Eds.) Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Jarvis, M.D., Leung, D.W.M. 2002. Chelated lead transport in pinus radiata: an ultrastructural study. Environmental and Experimental Botany, 48: 21-32.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S. 2009. Cadmium and lead-induced changes in lipid peroxidation, antioxidative enzymes and metal accumulation in *Brassica juncea* L. At three different growth stages. Archives of Agronomy and Soil Science, 55: 395-405.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. Florida: Boca Raton.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 2000. Trace Elements in Soils and Plants. 3rd Edn., CRC Press Inc., Boca Raton, USA.
- Khodaverdiloo, H., Rahmanian, M., Ghorbani Dashtaki, Sh., Rezapour, S., Hadi, H., Han, F.X. 2012. Effect of Cyclic Wetting-Drying Moisture on Redistribution of Lead (Pb) Loaded to Some Semiarid-Zone Soils. Pedosphere, 22: 304-313.
- Kuo, S. 1996. Phosphorus. Pp. 869-920. In: Sparks, D.L., (Eds.) Method of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.

- Larbi, A., Morales, F., Abadia, A. 2003. Effect of Cd and Pb in sugar beat Plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition. *Functional plant Biology*, 20(12): 1453- 1464.
- Lasat, M.M. 2002. Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms, Review and analyses with heavy metals. *Journal of Environmental Quality*, 31: 109- 120.
- Liu, D., Jiang, W., Liu, C., Xin, C., Hou, W. 2000. Uptake and accumulation of lead by roots, hypocotyls and shoots of Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Bioresource Technology*, 71: 273-277.
- Lone, M.I., He, z., Stoffella, P.J., Yang, X. 2008. Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. *Journal of Zhejiang University Science*, 9: 210-220.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Edition. Academic press.
- Molassiotis, A., Tanouc, G., Diamantidis, G., Patakas A. 2005. Effects of 4- month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism. Photosynthetic gas exchange chlorophyll fluorecence and antioxidant defense in two peach rootstock different in Fe deficiency tolerance. *Journal of Plant Nutrition*, 25: 843-860.
- McNair, M.R., Tilstone, G.H., Smith, S.S. 2000. The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. - In: Terry, N., Banuelos, G., (Eds.), *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Boca Raton, 235-250.
- Meyers, D.E.R., Kopittke, P.M., Auchterlonie, G.J., Webb, R.I. 2009. Characterization of Lead Precipitate Following Uptake by Roots of *Brassica juncea*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(11): 2250-2254.
- Nelson, R.E. 1982. Carbonate and gypsum. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R., (Eds.). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. 2nd ed. *Agronomy*, 9: 181-197.
- Ogunkunl, C., Fatoba, P. 2014. Contamination and spatial distribution of heavy metals in topsoil surrounding a mega cement factory. *Atmospheric Pollution Research*, 5: 270-282.
- Oliver, D., Naidu, R. 2003. Uptake of Cu, Pb, Cd, As and DDT by vegetables grown in urban environments. *Environmental Protection and Heritage Council*, 151-161.
- Prasad, D.D.K., Prasad, A.R.K. 1987. Altered aminolaevulinic acid metabolism by Pb and Hg in germinating seedling of Bajra. *Journal of Plant Physiology*, 127: 241-249.

- Qadir, S., Qureshi, M.I., Javed, S., Abdin, M.Z. 2004. Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress. *Plant Science*, 167: 1171-1181.
- Quartacci, A., Mike, F., Barbara Irtelli, A., Alan, J.M., Baker, B., Flavia, N.I. 2007. The use of NTA and EDDS for enhanced phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by *Brassica carinata*. *Chemosphere*, 68: 1920-1928.
- Rengel, Z. 1997. Mechanisms of plant resistance to toxicity of aluminium and heavy metals. In Basra, A.S., Basra, R.K., eds, *Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants*. Harwood Academic, Amsterdam, The Netherlands, 241-276.
- Rhoades, J.D. 1996. Electrical conductivity and total dissolved solids. P. 417-436. In Sparks, D.L., (Eds.) *Method of soil analysis*. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- Rosielle, A.T., Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environment. *Crop Science*, 21: 43-46.
- Ruley, A.T., Nilesh, C.S., Shivendra, V.S. 2004. Antioxidant defense in a lead accumulating plants, *Sesbania dormancies*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 899-906.
- Saha, P.K., Hossain, M.D. 2011. Assessment of heavymetal contamination and sediment quality in the Buriganga River, Bangladesh, 2nd International conference of environmental science and Technology, Singapore.
- Thangavel, P., Subhram, C.V. 2004. Phytoextraction-Role of hyperaccumulators in metal contaminated soils. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 70: 109-130.
- Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks, D.L., (Eds.) *Method of soil analysis*. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 475-490.
- Watanabe, M.E. 1997. Phytoremediation on the brink of commercialization. *Environmental Science and Technology*, 31: 182-186.
- Yang, X.E., Long, X.X., Calvert, D.V., Stofella, P.J. 2004. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). *Plant and Soil*, 259: 181-189.

- 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.
- Zimdahl, R.L. 1975. Entry and movement in vegetation of lead derived from air and soil sources, paper presented at 68th aAnnu. Meeting of air pollution control association. Boston M.A, June, 5.