



Investigation of the phytoremediation of lead in the metallicolous and non-metallicolous species *Matthiola*.

Behrooz Salehi-Eskandari¹, **Mina Shahbazi Gahrouei²**

1. Corresponding Author, Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran, Email:

Behsalehi@Pnu.ac.ir

2. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran, Email:

mn.shahbazi70@gmail.com

Article Info

ABSTRACT

Article type: Research Article

Article history:

Received: Sep. 4, 2022

Revised: Dec. 1, 2022

Accepted: Dec. 3, 2022

Published online: Jan. 22, 2022

Keywords:

accumulation,
Brassicaceae,
Growth,
Heavy metals,
Pb.

Lead is one of the most abundant and toxic heavy metals which can have lethal effects on plants. The Pb contamination is produced by mining, industrial, activities and fossil fuel burning. Some metallophytes plants belong to Brassicaceae family are able to grow in soils contaminated with heavy metals. The purpose of this study is to evaluate the resistance and lead accumulation of the metallicolous species *Matthiola flavida* collected from the vicinity of the Irankouh Pb/Zn mine in Isfahan, Iran, which is compared with its non-metallicolous species *Matthiola incana* to used Pb phytoremediation. Non-metallicolous (*Matthiola incana*) and metallicolous plants (*Matthiola flavida*) were transferred to hydroponic mediums and after proper vegetative growth, they were exposed to 0, 10, 50, 100, 150 mg/L treatments of lead for 14 days. The results showed by increasing lead concentration, the growth of both species significantly decreased, but this reduction in growth was always greater in the non-metallicolous species, so that at the highest stress level, the dry weight of shoots and roots decreased in the metallicolous to %7.1 and % 28.8, but in the non-metallicolous to %69.9 and %60.8 in comparison with their control, respectively. With increasing the concentration of Pb in the medium, the accumulation of lead in the roots of both species are enhanced, but Pb concentration in the roots and translocation factor of the metallicolous species compared to the non-metallicolous species was more than 4-folds at the lowest stress level, which decreased with increasing lead concentration. Then, the compatible mechanisms of the metallicolous species have the ability to control the transfer of lead to the shoot in different concentrations, which makes it suitable for growing in lead-contaminated areas.

Cite this article: Salehi-Eskandari, B., & Shahbazi Gahrouei, M. (2023). Investigation of the phytoremediation of lead in the metallicolous and non-metallicolous species *Matthiola*., *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 53 (11), 2501-2513. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.348205.669349>

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.348205.669349>



ارزیابی گیاه پالایی سرب توسط گونه‌های فلزدوست و غیر فلزدوست شببو (*Matthiola spp*)بهرروز صالحی اسکندری^۱، مینا شهبازی گهروی^۲۱. نویسنده مسئول، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، ایمیل: Behsalehi@Pnu.ac.ir۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، ایمیل: mn.shahbazi70@gmail.com

اطلاعات مقاله چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۱/۱

واژه‌های کلیدی:

انباشت،

رشد،

Pb،

خانواده کلم،

فلزات سنگین

سرب (Pb) یکی از فلزات سنگین غیرضروری و سمی برای گیاهان محسوب شده که قسمت عمده آلودگی ناشی از آن، حاصل استخراج از معادن، فعالیت‌های صنعتی و استفاده از سوخت‌های فسیلی است. برخی از گیاهان فلزدوست که اغلب از خانواده کلم هستند قادرند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین رشد کنند. هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت و انباشت سرب گونه‌ی فلزدوست شببو (*Matthiola flavid*) جمع آوری شده از اطراف معدن سرب و روی ایرانکوه اصفهان است که با گونه غیرفلزدوست (*Matthiola incana*) آن برای گیاه‌پایی مقایسه شده است. گیاهان غیرفلزدوست و فلزدوست شببو به محیط‌های هیدروپونیک منتقل شدند و پس از رشد رویشی مناسب به مدت ۱۴ روز در معرض تیمارهای صفر، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سرب قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت سرب رشد هر دو گونه کاهش یافت ولی همواره این کاهش رشد در گونه غیرفلزدوست بیشتر بود به طوری که در بالاترین سطح تنش، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گونه فلزدوست نسبت به گروه شاهد به ترتیب کاهش ۷/۱ و ۲۸/۸ درصدی داشت اما در گونه غیرفلزدوست این کاهش ۶۹/۹ و ۶۰/۸ درصدی بود. با افزایش غلظت سرب در محیط میزان سرب در ریشه هر دو گونه افزایش یافت اما میزان سرب در ریشه و انتقال آن به اندام‌های هوایی گونه فلزدوست نسبت به گونه غیرفلزدوست در پایین‌ترین سطح تنش، بیش از ۴ برابر بود که با افزایش غلظت سرب کاهش یافت. بنابراین مکانیسم‌های سازگاری گونه فلزدوست، توانایی کنترل انتقال سرب به اندام‌های هوایی در غلظت‌های مختلف است که آن را برای رویش در مناطق آلوده به سرب مناسب کرده است.

استناد: صالحی اسکندری؛ بهروز، شهبازی گهروی؛ مینا، (۱۴۰۱) ارزیابی گیاه پالایی سرب توسط گونه‌های فلزدوست و غیر فلزدوست شببو (*Matthiola spp*)، مجلهتحقیقات آب و خاک ایران، ۵۳ (۱۱)، ۲۵۰۱-۲۵۱۳. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.348205.669349>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.348205.669349>

مقدمه

گروهی از عناصر که وزن مخصوص و عدد اتمی آنها به ترتیب بیش از ۶ گرم بر متر مکعب و ۲۰ باشد را عناصر سنگین می‌نامند (Gadd, 1994) که شامل عناصر سنگین غیرضروری مشابه سرب، کادمیوم، آرسنیک، جیوه و سلنیوم است که عملکرد مشخصی در گیاهان ندارند. عناصر سنگین دیگری چون کبالت، مس، آهن، منگنز، مولیبدن، نیکل و روی برای رشد و متابولیسم گیاهان مورد نیاز هستند به همین دلیل عناصر سنگین ضروری محسوب می‌شوند (Rascio and Navari-Izzo, 2011). برخلاف آلاینده‌های آلی، فلزات سنگین توسط موجودات زنده قابل تجزیه نیستند و انباشت آن‌ها در طبیعت، به واسطه عملکردشان به عنوان ترکیبات سرطان‌زا و جهش‌زا باعث نگرانی‌های حیاتی برای موجودات زنده و محیط‌زیست شده است (Wu et al., 2018).

سرب یکی از فراوان‌ترین عناصر سنگین، غیرضروری است که برای گیاهان، حیوانات و انسان سمی است (Li et al., 2016; Wani et al., 2015). آلودگی سرب ناشی از فعالیت‌های صنعتی چون استخراج از معادن، ذوب فلزات، تولید انرژی (از زغال سنگ، سوخت‌های فسیلی و باتری‌ها)، فعالیت‌های کشاورزی (استفاده از حشره‌کش‌ها و کودها)، رنگ‌های حاوی سرب، لجن‌ها (حاصل از فاضلاب و صنعت) و ساخت مهمات (انواع گلوله‌های سربی) می‌شود (Gupta et al., 2013; Mahdavian et al., 2016). علائم سمی سرب در گیاهان، با تغییر در ساختار ریختی (مرفولوژی) فرایندهای بیوشیمیایی، فیزیولوژی و کاهش رشد نمایان می‌شود (Pourrut et al., 2013; Zulfiqar et al., 2019). حذف فلزات سنگین از خاک‌های آلوده یا غنی از آن‌ها می‌تواند بصورت فیزیکی، چون جایگزینی خاک‌های آلوده (Dellisanti et al., 2009) شیمیایی، همانند شستشوی خاک و تثبیت فلزات (Park and Son, 2017) و زیستی همچون جذب فلزات سنگین بوسیله میکروارگانیزم‌ها (Fauziah et al., 2017) انجام شود که پرهزینه، دارای اثرات مضر ثانویه که اغلب منجر به لیزر شدن زمین‌های کشاورزی می‌شود. کم‌هزینه‌ترین راه اصلاح چنین خاک‌های استفاده از گیاه‌پالایی است (Alaboudi et al., 2018) برخی گیاهان به علت داشتن قابلیت‌های سلولی خاص می‌توانند در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین رشد کرده و ازدیاد شوند (Alaboudi et al., 2018) این گیاهان را فلزدوست^۱ (M) می‌نامند (Baker, 1987). برخی آنها را گیاهان مقاوم به فلز^۲ یا بیش‌مقاوم به فلز^۳ معرفی نمودند که بیانگر سطح بالایی از تحمل به فلز است که معمولاً در بین گیاهان غیرفلز دوست (NM)^۴ دیده نمی‌شود (Clemens, 2006; Mohtadi et al., 2012). معمولاً بیش‌مقاوم بودن به فلزات یک صفت وراثتی است (Macnair, 1993). تحمل بیش از حد به فلزات (بیش‌مقاومتی) در گیاهان از طریق مکانیسم‌های مختلفی چون محدودیت جذب، سم‌زدایی (از طریق ترکیب یا تغییر شکل فلز) و کده‌بندی^۵ درون سلولی کسب می‌گردد (Clemens, 2006). البته تحمل بیش از حد به فلزات در گیاهان بیش‌مقاوم به‌طور عمده ترکیبی از مکانیسم‌های متفاوت مقاومت به فلزات است (Jack et al., 2007).

بیشتر گیاهان فلزدوست، محدود کننده^۶ هستند و از انباشت فلز در اندام‌های هوایی پرهیز می‌کنند (Baker, 1987) و آنها را در دیواره‌ها و واکوئل‌های سلول‌های ریشه انباشت می‌نمایند. گیاهان فلزدوست محدود کننده به طیف گسترده‌ای از فلزات سنگین چون مس، روی، کادمیوم، منگنز، کبالت، نیکل، سرب و آرسنیک مقاوم هستند. البته برخی گیاهان نیز نشان‌گر^۷ محسوب شده که میزان فلز در بافت‌های آنها با خاک دارای رابطه خطی است (Egendorf et al., 2020) اما برخلاف گیاهان فلزدوست محدود کننده، و نشان‌گر تعداد کمی از گیاهان فلزدوست (حدود ۵۰۰ گونه در سراسر جهان) بیش‌انباشت‌گر، عناصر سنگین را در غلظت‌های بسیار بالا در اندام‌های هوایی خود انباشت می‌نمایند بدون آن‌که علامت سمیت آن عنصر ظاهر شود (Baker and Brooks, 1989; Verbruggen et al., 2009). انباشت عناصر در اندام‌های هوایی می‌تواند بیشتر یا کمتر از خاک باشد ولی غلظت عنصر در برگ‌ها نسبت به ریشه، بیشتر از یک است (Baker and Brooks, 1989; Kazakou et al., 2008). اغلب گیاهان بیش‌انباشت‌گر متعلق به خانواده کلم^۸ هستند و بیشتر آنها که در خاک‌های سرپنتینی غنی از نیکل یافت می‌شوند، بیش‌انباشت‌گر نیکل می‌باشند (Salehi-Eskandari et al., 2017; Verbruggen et al., 2009).

معدن سرب و روی ایرانکوه در ناحیه مرکزی ایران در ۲۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان واقع شده است. استخراج فلزات سنگین

1 - metallophytes
2 - metal tolerance
3 - hypertolerance
4 - non-metallicolous plants
5 - compartmentation
6 - Excluder metallophytes
7 - Indicators plants
8 - Brassicaceae

سرب و روی از معدن باعث افزایش قابل توجه فلزهای سنگین در محل‌های انباشت باطله و مناطق مجاور شده است (Bagheri et al., 2011). پوشش گیاهی درون معدن بعثت بالا بودن فلزات سنگین (سرب) و فقدان عناصر آلی و مواد غذایی، فقیر است. برخی گیاهان روییده در اطراف معدن توانسته‌اند خود را با شرایط اکولوژیک آن سازگار کرده و باقی بمانند. شب‌بو *Matthiola flavida* Boiss گیاهی علفی و چند ساله از خانواده کلم است که در تپه‌های خشک صخره‌ای و دشت‌های شنی در ایران، پاکستان، کشمیر، افغانستان و ترکمنستان رویش می‌کند (Mohtadi et al., 2012; Salehi-Eskandari et al., 2022). شبوی زینتی *Matthiola incana* در فصل بهار به‌عنوان گیاه زینتی در بوستان‌ها و منازل کشت می‌شود. جهت درک بهتر میزان مقاومت و انباشت سرب در گیاه فلزدوست (M) شب‌بو (*M. flavida*) میزان رشد و انباشت سرب در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه شب‌بو فلز دوست را با شبوی زینتی غیر فلزدوست (NM) مقایسه نمودیم تا به سازگاری‌های درون‌زاد آن پی ببریم.

روش بررسی

مواد گیاهی و اعمال تنش سرب

میوه‌های خورجین *M. flavida* شب‌بوی فلزدوست (M) در اواخر اردیبهشت از حداقل ۴۰ گیاه بوته‌ای روییده در معدن سرب و روی ایرانکوه (استان اصفهان) جمع‌آوری شد. میوه‌های بالغ با هم مخلوط شده و پس از خشک شدن کامل میوه‌ها، دانه‌های موجود در آنها خارج و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذره‌های شب‌بوی زینتی (*M. incana*) یا فلزدوست (NM) از موسسه پاکان بذر (اصفهان) خریداری شد. بذره‌های هر دو گونه به مدت ۱۵ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی شده و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. دانه‌ها پس از جوانه‌زنی به گلدان‌های پرلیت منتقل شده و با آب مقطر آبیاری شدند. بعد از سه هفته دو گیاهچه یکدست به گلدان‌های پلاستیکی حاوی محیط هوگلند یک چهارم قدرت حاوی 0.75 mM MgSO_4 ، $1.5 \text{ mM Ca(NO}_3)_2$ ، $5 \text{ }\mu\text{M MnSO}_4$ ، $0.5 \text{ }\mu\text{M CuSO}_4$ ، $1 \text{ }\mu\text{M ZnSO}_4$ ، $10 \text{ }\mu\text{M Fe(Na)-EDTA}$ ، $0.28 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ ، 1.25 mM KNO_3 ، $25 \text{ }\mu\text{M H}_3\text{BO}_3$ و $0.1 \text{ }\mu\text{M Na}_2\text{MoO}_4$ و $50 \text{ }\mu\text{M KCl}$ منتقل و pH محیط ۵/۸ تنظیم شد و محلول‌های غذایی هر هفته دو بار با محلول جدید تعویض شدند و آنها در شرایط اتاق کشت با دمای 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۲۰۰ میکرو مول فتون بر متر مربع بر ثانیه نگهداری و هوادهی شدند (Salehi-Eskandari et al., 2022). پس از ۴۵ روز، گلدان‌های حاوی *M. incana* و پس از ۶۰ روز گلدان‌های حاوی *M. flavida* به مدت ۱۴ روز در معرض غلظت‌های ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب $\text{Pb(NO}_3)_2$ قرار گرفتند. علت اختلاف زمانی رویش جهت افزودن سرب در دو گونه، رشد کمتر *M. flavida* بود. جهت جلوگیری از رسوب فسفات سرب و تشکیل Pb-EDTA به علت جایگزینی سرب با آهن موجود در کمپلکس EDTA محلول هوگلند فاقد KH_2PO_4 و Fe(Na)-EDTA بود (Salehi-Eskandari et al., 2022).

اندازه‌گیری رشد، ماده خشک، محتوای نسبی آب برگ و غلظت سرب

پس از برداشت، اندام‌های هوایی و ریشه‌ها از هم جدا و توزین شدند و طول آنها با خط کش برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون نگهداری و مجدداً پس از خشک شدن توزین شدند. برای اندازه‌گیری میزان سرب در بافت‌های خشک، ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک و پودر شده به لوله‌های شیشه‌ای حاوی ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۶۵ درصد منتقل شدند. جهت هضم اسیدی ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در زیر هود نگهداری شده سپس در حمام شنی ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت حرارت داده شدند. پس از خنک شدن به آنها آب اکسیژنه به میزان ۱/۵ میلی‌لیتر افزوده و مجدداً ۳۰ دقیقه در حمام شنی قرار داده شدند تا محلول بی‌رنگی ایجاد شود. در نهایت نمونه‌ها صاف و حجم نهایی آنها با آب مقطر ۱۰ میلی‌لیتر گردید (Salehi-Eskandari et al., 2018). مقدار سرب توسط دستگاه طیف سنج اتمی (AAS, Shimadzu model 6200) اندازه‌گیری شد که دقت اندازه‌گیری آن در حد میلی‌گرم در لیتر سرب بود. میزان انتقال نیکل (translocation factor; TF) به اندام‌های هوایی از تقسیم میزان نیکل در یک گرم بافت خشک اندام‌های هوایی بر میزان نیکل در یک گرم بافت خشک ریشه محاسبه شد (Salehi-Eskandari et al., 2017). میزان محتوای نسبی آب برگ (Relative Water Content; RWC) از رابطه ۱ محاسبه شد (Xu et al., 2021).

$$\text{RWC \%} = \left[\frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{FW}} \right] \times 100$$

FW و DW به ترتیب نشانگر وزن تر، خشک شده از نمونه‌های برگ است.

محاسبه‌های آماری

آزمایش بر طبق طرح کاملاً تصادفی (برای هر تیمار با سه تکرار) صورت گرفت و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. برای آنالیز نتایج، از روش تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با بکارگیری آزمون چند دامنه‌ای دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد محاسبه گردید و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته‌ها

اثر غلظت‌های مختلف سرب بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و نسبت اندام‌های هوایی به ریشه نتایج تغییرات میانگین وزن تر اندام‌های هوایی در شکل ۱- A، نشان داد که وزن تر اندام‌های هوایی گونه غیرفلز دوست (NM) شب‌بو (*M. incana*) با افزایش غلظت سرب در هر تیمار نسبت به تیمار قبلی خود کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) اما در گونه فلز دوست (M) شب‌بو (*M. flavida*) این کاهش تا تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر مشابه گونه NM بود ولی در غلظت‌های بالاتر این روند کاهشی کمتر بود به طوری که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر سرب و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر سرب در یک سطح قرار گرفتند ($P > 0.05$).

نتایج تغییرات وزن خشک اندام‌های هوایی نشان داد که وزن خشک در گونه غیر فلز دوست (NM) مشابه وزن تر بود و با افزایش غلظت سرب نسبت به گروه شاهد کاهش داشت (شکل ۱- B) به طوری که این کاهش نسبت به گروه شاهد در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۱۸/۲، ۴۴/۱، ۴۷/۹، ۶۹/۱ درصد بود که نشان می‌دهد در این گونه غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر سرب در یک سطح قرار گرفتند ($P > 0.05$) اما این روند در در گونه فلز دوست (M) متفاوت بود و تمام تیمارها بجز غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر سرب در یک سطح قرار داشتند ($P > 0.05$).

وزن خشک ریشه در گونه NM مشابه تغییرات وزن اندام هوایی با افزایش غلظت سرب کاهش داشت. این کاهش در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، نسبت به گروه شاهد به ترتیب ۷/۷، ۳۲/۸، ۴۹/۹، ۶۰/۴ درصد بود که نشان می‌دهد این کاهش تنها در پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی گرم در لیتر) با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$) اما در گونه مقاوم فلز دوست (M) وزن خشک ریشه فقط در بالاترین سطح تنش (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) نسبت به گروه شاهد کاهش (۲۸/۸ درصد) معنی‌دار داشت ($P < 0.05$). مطابق شکل ۱ (D)، نسبت اندام‌های هوایی به ریشه در گونه غیر فلز دوست *M. incana* در تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند در نتیجه تمام تیمارها از لحاظ آماری با گروه شاهد در یک سطح قرار گرفتند ($P > 0.05$) اما در بالاترین تنش (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) نسبت به تیمار قبلی (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) کاهش ۲۵/۵ درصدی مشاهده شد ($P < 0.05$). نسبت اندام‌های هوایی به ریشه گونه فلز دوست (*M. flavida*) بجز در بالاترین سطح سرب (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) در مابقی تیمارها اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند ($P > 0.05$) ولی در بالاترین سطح نسبت به گروه شاهد افزایش ۳۰/۶ درصدی مشاهده شد ($P < 0.05$). با توجه به روند متفاوت پاسخ (وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و نسبت اندام‌های هوایی به ریشه) هر دو گونه به تیمارهای سرب، طبق جدول ۱ برهمکنش‌های آنها (گونه و سرب) معنی‌دار شد.

اثر غلظت‌های مختلف سرب بر طول ریشه و ساقه

نتایج تغییرات طول ریشه تحت تنش حاصل از غلظت‌های مختلف سرب، مطابق شکل ۲- A نشان داد که طول ریشه هر دو گونه با افزایش غلظت سرب کاهش یافت اما این کاهش همواره در گونه غیرفلز دوست (NM) شب‌بو *M. incana* بیشتر از گونه فلز دوست (M) *M. flavida* بود. به طوری که طول ریشه در گونه *M. incana* در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر سرب، نسبت به گروه شاهد به ترتیب ۱۲/۱، ۲۰/۲، ۳۵/۴، ۴۳/۹ درصد کاهش داشت این کاهش تنها در پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی گرم در لیتر) معنی‌دار نبود ($P > 0.05$) و طول ریشه در سطوح مختلف تنش سرب نسبت به سطح قبلی بجز در بالاترین سطوح تنش (۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). طول ریشه در گونه فلز دوست (NM) شب‌بو (*M. flavida*) فقط در بالاترین سطوح تنش (۲۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) نسبت به تیمارهای قبلی و شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$) و سطوح پایین‌تر (۵۰ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$).

نتایج حاصل از تنش سرب بر تغییرات طول ساقه گونه‌های فلز دوست (M) و غیر فلز دوست (NM) شب‌بو مشابه طول ریشه بود (شکل ۲- B). به طوری که در گونه NM (*M. incana*) در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر سرب، نسبت به گروه شاهد

به ترتیب ۱۳/۷، ۱۷/۵، ۲۸/۴، ۴۲/۴ درصد کاهش داشت ولی این کاهش در گونه *M. flavida* (۱۱/۸، ۱۷/۴، ۱۸/۲، ۳۰/۱ درصد بود. این کاهش در هر اولین سطح تنش سطح (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) با گروه شاهد و در ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب معنی‌دار نبود ($P>0.05$). با توجه به پاسخ مشابه طول ریشه هر دو گیاه نسبت به تنش سرب، اثر گونه و تنش سرب برای این صفات معنی‌دار شدند ولی اثر متقابل گونه و تنش سرب بر آنها معنی‌دار نشد (جدول ۱).

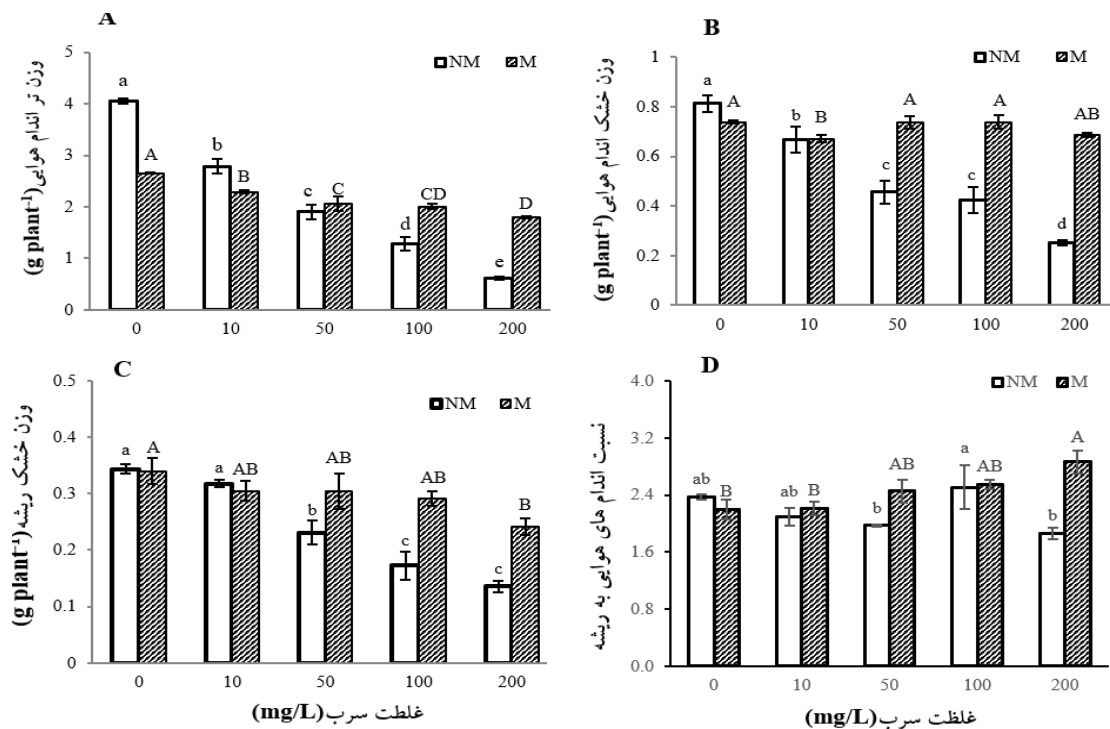
جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر سرب و گونه و برهمکنش آن‌ها بر صفات رویشی، تجمع سرب در اندام‌های رویشی و میزان انتقال آن

| منابع تغییرات | درجه آزادی | وزن تر اندام‌های هوایی (g Plant ⁻¹) | وزن خشک ساقه (g Plant ⁻¹) | وزن خشک ریشه (g Plant ⁻¹) | نسبت ساقه به ریشه | طول ریشه (cm) |
|---------------|------------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|-------------------|
| سرب | ۴ | ۴/۲*** | ۰/۰۸*** | ۰/۰۲۳*** | ۰/۱۳ ^{ns} | ۱۱۹/۷*** |
| گونه | ۱ | ۰/۰۰۸ ^{ns} | ۰/۲۸*** | ۰/۰۲۴*** | ۰/۶۵** | ۶۱/۶*** |
| سرب × گونه | ۴ | ۱/۶*** | ۰/۰۷*** | ۰/۰۰۶** | ۰/۳۲** | ۳/۹ ^{ns} |
| خطا | ۲۰ | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۶ | ۳/۴ |

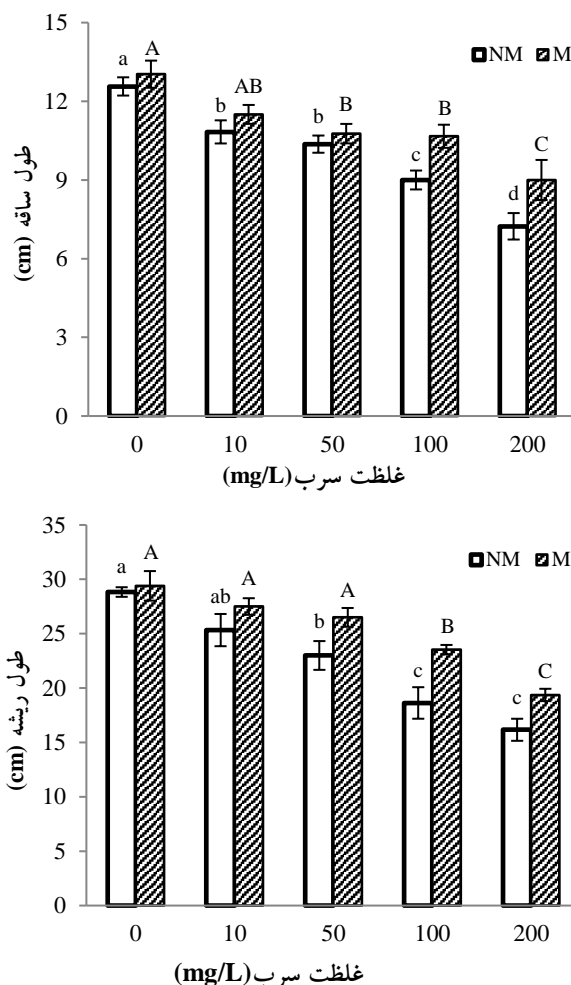
جدول ۲. ادامه

| منابع تغییرات | درجه آزادی | طول ساقه (cm) | محتوای نسبی آب (%) | سرب در ریشه (g/kg DW) | سرب در اندام‌های هوایی (g/kg DW) | میزان انتقال سرب |
|---------------|------------|--------------------|--------------------|-----------------------|----------------------------------|------------------|
| سرب | ۴ | ۱۷/۸*** | ۲۴۱/۵*** | ۳۹۴۱۳۴۹*** | ۱۴۸۳/۶*** | ۰/۰۰۰*** |
| گونه | ۱ | ۷/۳*** | ۲۰۵/۳*** | ۵۴۵۴/۵ ^{ns} | ۲۴۵/۳۵*** | ۰/۰۰۰*** |
| سرب × گونه | ۴ | ۰/۶۷ ^{ns} | ۴۵/۳*** | ۴۶۷۴/۱ ^{ns} | ۲۱/۲۲** | ۰/۰۰۰*** |
| خطا | ۲۰ | ۰/۶۴ | ۴/۵ | ۷۶۲۸/۳ | ۳/۶ | ۰/۰۰۰ |

^{ns}، *، ** و *** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و ۰/۱ درصد



شکل ۱- اثر تنش سرب بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (A, B)، وزن خشک ریشه (C) و نسبت اندام‌های هوایی به ریشه (D) گونه‌ی فلز دوست *M. flavida* (M) و غیرفلز دوست *M. incana* (NM) شب‌بو. هر عدد میانگین سه تکرار است، \pm انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن ($P<0.05$) است.



شکل ۲- اثر تنش سرب بر طول ریشه (A) و ساقه (B) گونه‌ی فلز دوست *M. flavida* (M) و غیرفلز دوست *M. incana* (NM) شب‌بو. هر عدد میانگین سه تکرار است، \pm انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

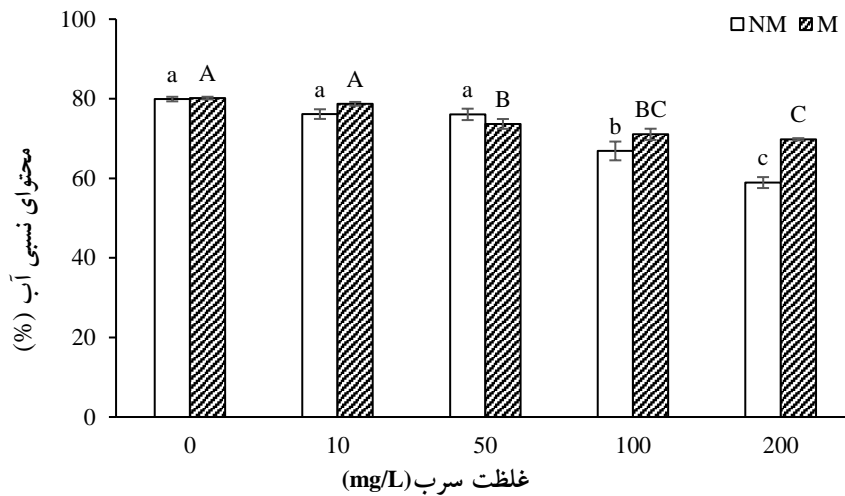
اثر غلظت‌های مختلف سرب بر محتوای نسبی آب (RWC)

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد محتوای نسبی آب گونه فلز دوست (M) در پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) اما در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$) که این کاهش در سطوح بالا (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) و متوسط (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) نسبت به هم معنی‌دار نبود و آنها با هم در یک سطح آماری قرار گرفتند ($P > 0.05$). محتوای نسبی آب در گونه غیر فلز دوست (NM)، نیز در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و تیمارهای قبلی (۵۰ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) داشت ($P < 0.05$) اما در این گونه نیز بالاترین سطح تنش (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) کمترین محتوای آبی را به خود اختصاص داد که نسبت به تیمار قبلی (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) کاهش معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) با توجه به پاسخ متفاوت محتوای آبی دو گونه شب‌بو نسبت به تنش، برهمکنش آنها با تنش سرب (گونه \times سرب) معنی‌دار شد ($P < 0.05$).

اثر غلظت‌های مختلف سرب بر تجمع و انتقال آن

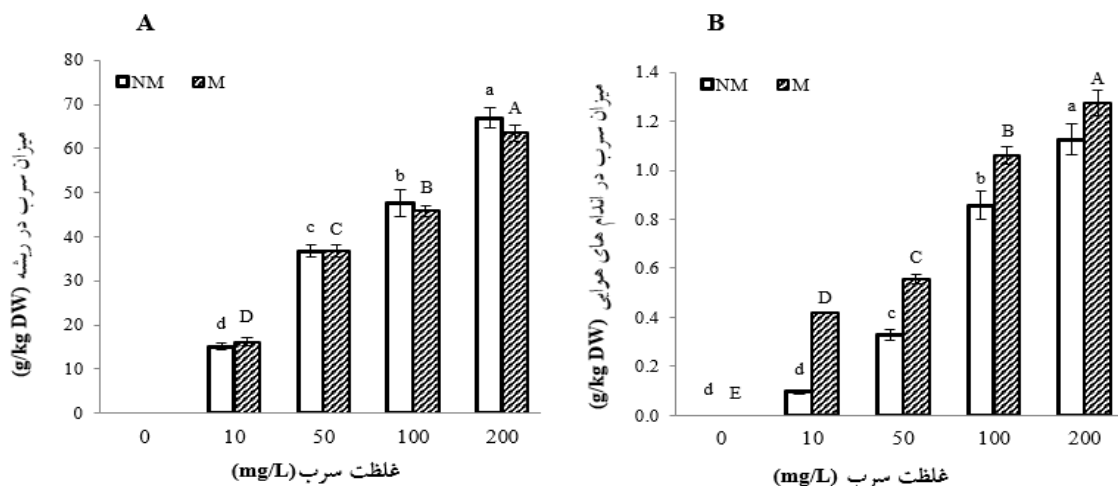
نتایج اثر غلظت‌های مختلف سرب بر جذب و انباشت آن (شکل ۴- A) نشان داد که جذب سرب با افزایش غلظت سرب در ریشه‌های هر دو گونه (NM, M) افزایش یافت. این افزایش در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نسبت به پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) در گونه غیر فلز دوست (NM) به ترتیب افزایش ۲/۴، ۳/۲ و ۴/۴ برابری و در گونه فلز دوست (M) ۲/۳، ۳/۹ و ۲/۸ برابری داشت که این افزایش در هر دو گونه (NM, M) و در هر تیمار نسبت به تیمار قبلی معنی‌دار شد ($P < 0.05$). با توجه

به پاسخ مشابه انباشت سرب در ریشه دو گونه شببو (NM, M) با افزایش غلظت سرب، برهمکنش آن‌ها با تنش سرب (گونه × سرب) معنی‌دار نشد ($P > 0.05$).



شکل ۳- اثر تنش سرب بر محتوی نسبی آب اندام‌های هوایی گونه‌ی فلز دوست M (*M. flavida*) و غیرفلز دوست NM (*M. incana*) شببو. هر عدد میانگین سه تکرار است، \pm انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

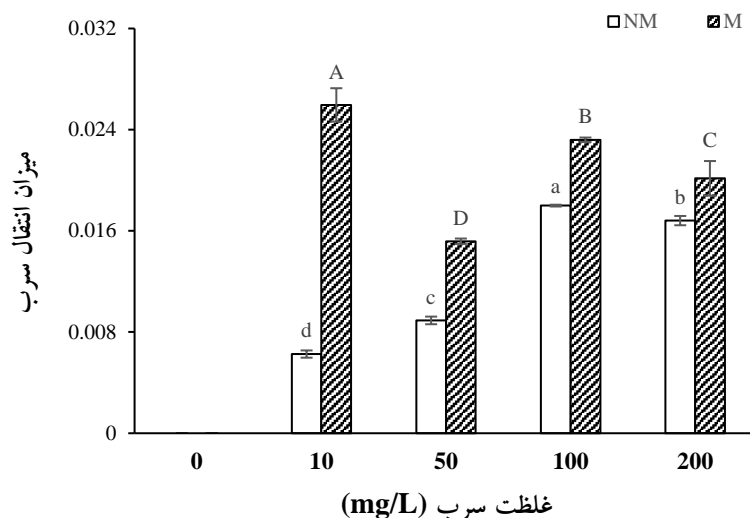
مطابق شکل ۴- B، میزان انباشت سرب در اندام‌های هوایی هر دو گونه شببو (M, NM) با افزایش غلظت سرب در محیط افزایش داشت. به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نسبت به پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) در گونه غیر فلز دوست (NM) به‌ترتیب ۳/۵، ۹/۰۱ و ۱۱/۹ برابری و در گونه فلز دوست (M) ۱/۳، ۲/۵ و ۳/۱ برابری نشان داد که این افزایش در هر دو گونه (NM, M) و در هر تیمار نسبت به تیمار قبلی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با توجه به روند متفاوت انباشت سرب در اندام‌های هوایی دو گونه شببو (NM, M)، برهمکنش آن‌ها با تنش سرب (گونه × سرب) معنی‌دار شد ($P < 0.05$).



شکل ۴- اثر تنش سرب بر طول ریشه (A) و ساقه (B) گونه‌ی فلز دوست M (*M. flavida*) و غیرفلز دوست NM (*M. incana*) شببو. هر عدد میانگین سه تکرار است، \pm انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

شکل ۵ نشان داد، با افزایش غلظت سرب در محیط، میزان انتقال آن، از ریشه به اندام‌های هوایی گونه غیرفلز دوست (NM) افزایش داشت به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نسبت به پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) به‌ترتیب ۱/۴، ۲/۹ و ۲/۷ برابر بود اما این روند در گونه فلز دوست (M) روند عکس داشت و با افزایش غلظت میزان انتقال سرب کاهش

یافت به طوری که در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب، نسبت به پایین‌ترین سطح تنش (۱۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) کاهش ۴۱/۵، ۱۰/۶ و ۲۲/۴ درصدی داشت. با توجه به روند متفاوت انتقال سرب از ریشه به اندام‌های هوایی در دو گونه شب بو (NM، M) با افزایش غلظت سرب، برهمکنش آن‌ها با تنش سرب (گونه × سرب) معنی‌دار شد ($P < 0.05$).



شکل ۵- اثر تنش سرب بر میزان انتقال سرب در گونه‌ی فلز دوست M (*M. flavida*) و غیرفلز دوست NM (*M. incana*) شب بو. هر عدد میانگین سه تکرار ± است، ± انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

بحث

سرب (Pb) به عنوان دومین فلز سمی خطرناک، یکی از آلاینده‌های اصلی محیط زیست محسوب شده که در اثر گسترش فعالیت‌های صنعتی بشر در حال افزایش است (Obiora et al., 2016). در این پژوهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه (شکل ۱)، طول گیاه (شکل ۲) در هر دو گونه با افزایش غلظت سرب کاهش یافت به طوری که در هر دو گونه کمترین رشد در بالاترین غلظت سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) رخ داد (شکل ۱). مشابه با نتایج این پژوهش غلظت ۳۳/۱ میلی‌گرم در لیتر سرب به مدت ۷ روز در گیاه یونجه (*Medicago sativa*) به ترتیب موجب کاهش ۴۴، ۴۱ و ۳۱ درصدی وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه، طول ساقه و ریشه می‌شود (Hattab et al., 2016). علاوه بر این شاخص‌های رشدی چون طول گیاه، میزان محصول، سطح، طول و عرض برگ، میزان انشعابات ساقه و کارایی ریشه نیز تحت تاثیر سمیت سرب قرا می‌گیرند (Kumar and Prasad, 2018). میزان کاهش رشد طولی ساقه (شکل ۱-۲B) هر دو گونه فلز دوست (M) و غیر فلز دوست (NM) شب بو در بالاترین غلظت سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) به ترتیب ۳۰/۹ و ۴۲/۴ درصد بود و کاهش رشد طولی ریشه آن‌ها (شکل ۲-A) ۳۴/۱ و ۴۳/۹ درصد بود. کاهش رشد حاصل از سرب به کاهش جذب و تجمع عناصر ضروری چون آهن، پتاسیم، منیزیم، مس، روی و منگنز نسبت داده می‌شود که احتمالاً ناشی از تغییر در نفوذپذیری غشاء یا اشغال ناقلین توسط سرب که منجر به انسداد ورود کاتیون‌ها می‌شود (Patra et al., 2004). حفظ تعادل عناصر غذایی برای رشد گیاه بسیار ضروری است. عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف برای رشد طبیعی گیاهان ضروری هستند (Dalyan et al., 2020). تنش سرب رابطه گیاه را با عنصر غذایی مختل کرده و نسبت عناصر غذایی داخلی بین بافت‌های گیاهی را تغییر می‌دهد (Gopal and Rizvi, 2008) کاهش رشد و زیست توده گیاه به دلیل تنش فلزی ناشی از تغییر در فرآیندهای بیوشیمیایی متنوع در سطح سلولی است که بر جذب عناصر غذایی و متابولیسم تأثیر می‌گذارد (Ali et al., 2015). سرب همچنین بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و تثبیت دی‌اکسید کربن اثر گذاشته و کارایی فتوسنتز را کاهش می‌دهد (Dubey and Sharma, 2005). سمیت سرب موجب افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) شده که منجر به تنش اکسیداتیو و در نهایت کاهش رشد می‌شود (Kumar and Prasad, 2018; Shahid et al., 2014).

میزان کاهش وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی در بالاترین سطح تنش (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) در گونه فلز دوست (M) نسبت به گیاهان شاهد خودشان به ترتیب ۲۸/۸ و ۷/۱ (شکل ۱) که نشان دهنده حساسیت بیشتر ریشه به سرب در این گونه است که

احتمالا ناشی از انباشت بیشتر سرب در ریشه است. مشابه با نتایج این پژوهش انباشت بیشتر سرب ریشه در گیاه برنج (*oryza sativa*) (Ashraf et al., 2017)، نخود فرنگی (*Pisum sativum*) (Malecka et al., 2008)، تنباکو (*Nicotiana tabacum*) (Gichner et al., 2008) و ذرت (*Zea mays* L.) (Gupta et al., 2009) نیز گزارش شده است. در مطالعه که بر روی گیاه شبدر کشت شده در مناطق آلوده به سرب (۶/۶ میلی گرم سرب در هر کیلوگرم خاک) انجام شد بالاترین میزان تجمع سرب در ریشه است که بیشتر از اندام‌های هوایی است (Bhatti et al., 2018). البته این مهار رشد ریشه ممکن است ناشی از اختلالات در تقسیم سلولی و یا افزایش طول سلول باشد (Kozhevnikova et al., 2009). کاهش میزان تقسیم سلولی و طول ریشه گیاه توسط سرب با راهکارهای مختلفی ایجاد می‌شود، از جمله تغییر انعطاف‌پذیری دیواره سلولی، مهار رشد میکروتوبول‌ها و سنتز DNA، ناهنجاری‌های کروموزومی ناشی از عناصر سنگین، افزایش طول دوره (زمان) چرخه میتوزی، مهار سیتوکینین‌ها، کاهش مخزن گلوکوتایون و انرژی همراه است (Dalyan et al., 2020). وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی گونه غیر فلز دوست (NM) در بالاترین سطح تنش (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) نسبت به گیاهان شاهد خودشان به ترتیب ۶۰/۴ و ۶۹/۱ است (شکل ۱-B) که برخلاف گونه فلز دوست (M) اختلاف حساسیت اندام‌های هوایی با ریشه ناچیز است. نسبت اندام‌های هوایی به ریشه در گونه غیر فلز دوست (NM) شب‌بو با افزایش غلظت سرب روند کاهشی داشت اما این روند در گونه فلز دوست (M) افزایشی بود، به طوری که در بالاترین غلظت سرب در محیط (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) میزان کاهش در گونه NM، ۲۱/۴ درصد و میزان افزایش در گونه M، ۳۰/۷ درصد بود (شکل ۱-D). کاهش نسبت اندام‌های هوایی به ریشه در گونه NM بدلیل حساسیت بیشتر اندام‌های هوایی گونه NM نسبت به سرب است که احتمالاً به علت نداشتن مکانسیم‌های سم‌زدایی گونه غیر فلز دوست (NM) است که نتوانسته در برابر سمیت حاصل از سرب مقاومت کند. گونه فلز دوست (M) مشابه اغلب گیاهان انباشت بیشتر سرب در ریشه‌ها (۹۵ درصد) و تنها مقدار کمی (۵ درصد) از آن به اندام‌های هوایی منتقل می‌شود (Zhou et al., 2016). به همین دلیل اختلال در رشد ریشه در آنها بیشتر از اندام‌های هوایی است (Mitra et al., 2020)

محتوای نسبی آب (RWC) گونه غیر فلز دوست (NM) در بالاترین غلظت سرب (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سرب) نسبت به گروه شاهد ۲۱ درصد کاهش داشت، در صورتی که این کاهش در گونه فلز دوست (M) ۱۰/۴ درصد بود (شکل ۳). تنش سرب از روش‌های مختلف منجر به کاهش میزان تعرق و میزان آب در گیاهان می‌شود. که به اختصار می‌توان به کاهش سطح برگ (Brunet et al., 2009)، کوچک‌تر شدن سلول‌های محافظ روزنه (Weryszko-Chmielewska and Chwil, 2005) و کاهش پتانسیل آبی گیاه بواسطه کاهش قندها و اسیدهای آمینه و افزایش سختی دیواره سلولی (Barceló and Poschenrieder, 1990) اشاره کرد. از طرفی ریشه با انباشت بیشتر فلزات سنگین در دیواره‌های سلولی و افزایش چوبی شدن منجر به کاهش رشد و سطح جذبی شده و مسیر آپوپلاستی دیواره سلولی و اکوپورین‌های موجود در غشاء پلاسمایی را محدود می‌نماید (Rucińska-Sobkowiak et al., 2016) با توجه به کاهش بیشتر RWC گونه NM می‌توان چنین استنباط کرد که این گونه به تنش سرب حساسیت بیشتر داشته و تحت این شرایط آب بیشتری از دست داده است.

میزان سرب در ریشه و اندام‌های هوایی هر دو گونه با افزایش غلظت سرب در محیط افزایش یافت (شکل ۳). میزان سرب در ریشه دو گونه در تمام تیمارها بیشتر از اندام‌های هوایی بود اما همواره میزان انتقال سرب از ریشه به اندام‌های هوایی (TF) در گونه فلز دوست (M) بیشتر از گونه غیر فلز دوست (NM) بود (شکل ۴). نسبت انباشت سرب در ریشه به اندام‌های هوایی گونه غیر فلز دوست (NM) بیشتر از گونه فلز دوست (M) بود که نشان می‌دهد میزان انباشت سرب در اندام‌های هوایی گونه M در تمام تیمارها بیشتر از گونه NM است. سرب در ریشه‌ها، ممکن است با اتصال به مکان‌های قابل تبادل یونی در دیواره‌های سلولی، به صورت خارج سلولی رسوب کند. کم تحرکی سرب و کاهش انتقال آن به اندام‌های هوایی را می‌توان به جذب سرب توسط گروه‌های کربوکسیل پکتین‌ها (اجزای دیواره سلولی با بار منفی)، رسوب نمک‌های سرب در فضاهای بین سلولی و کده‌بنده آن در واکوئل سلول‌های ریشه نسبت داد (Pourrut et al., 2016; Rucińska-Sobkowiak et al., 2011). گیاهانی که دارای سیستم بسیار گسترده ریشه، با سرعت رشد سریع، زیست توده بالا، مقاوم به غلظت بالای سرب و با TF بالا (بیشتر از ۱) هستند کاندیدهای بالقوه برای استخراج گیاهی سرب محسوب می‌شوند (Mitra et al., 2020).

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج می‌توان چنین استنباط کرد که گونه فلز دوست (M) شب‌بو با داشتن قابلیت سم‌زدایی در اندام‌های هوایی و همچنین

کاهش انتقال سرب به اندام‌های هوایی در غلظت‌های بالا توانسته از سمیت سرب جلوگیری کند به‌همین دلیل فاکتورهای رشد و محتوای نسبی آب در تمام غلظت‌ها در گونه فلزدوست (M) بیش از گونه غیرفلزدوست (NM) بود. میزان انتقال سرب در گونه غیر فلز دوست (NM) برخلاف گونه فلز دوست (M) با افزایش غلظت سرب افزایش یافت چون این افزایش بیش از توان مقاومتی این گونه بود کاهش عوامل رشد و محتوای نسبی آب در آن بیش از گونه فلزدوست (M) بود. بنابراین داشتن سیستم محافظتی قوی در اندام‌های هوایی و توانایی کنترل انتقال سرب به اندام‌های هوایی از مکانیسم‌های سازگاری گونه فلز دوست برای رویش در مناطق آلوده به سرب است.

سیاس‌گذاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور استان اصفهان به دلیل حمایت مالی از این تحقیق صمیمانه سپاس‌گذاری می‌شود.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Alaboudi, K.A., Ahmed, B. and Brodie, G. (2018). Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant. *Annals of agricultural sciences*, 63(1), 123-127.
- Ali, N., Masood, S., Mukhtar, T., Kamran, M.A., Rafique, M., Munis, M. and Chaudhary, H.J. (2015). Differential effects of cadmium and chromium on growth, photosynthetic activity, and metal uptake of *Linum usitatissimum* in association with *Glomus intraradices*. *Environmental monitoring and assessment*, 187, 1-11.
- Ashraf, U., Hussain, S., Anjum, S.A., Abbas, F., Tanveer, M., Noor, M.A. and Tang, X. (2017). Alterations in growth, oxidative damage, and metal uptake of five aromatic rice cultivars under lead toxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 461-471.
- Bagheri, H., Pakzad, H. and Timori, F. (2011). Investigation on the genesis of metals and ore bearing fluids in Irankuh Pb-Zn deposit. *Journal of Stratigraphy and Sedimentology Researches*, 27(3), 83-102. (In Farsi)
- Baker, A.J. and Brooks, R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 81-126.
- Baker, M. (1987). Metal Tolerance. *New Phytologist*, 93-111.
- Barceló, J. and Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *Journal of plant nutrition*, 13, 1-37.
- Bhatti, S.S., Kumar, V., Sambyal, V., Singh, J. and Nagpal, A.K. (2018). Comparative analysis of tissue compartmentalized heavy metal uptake by common forage crop: a field experiment. *Catena*, 160, 185-193.
- Brunet, J., Varrault, G., Zuily-Fodil, Y. and Repellin, A. (2009). Accumulation of lead in the roots of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) plants triggers systemic variation in gene expression in the shoots. *Chemosphere*, 77, 1113-1120.
- Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88, 1707-1719.
- Dalyan, E., Yüzbaşıoğlu, E. and Akpınar, I. (2020). Physiological and biochemical changes in plant growth and different plant enzymes in response to lead stress. *Lead in plants and the environment*, 129-147.
- Dellisanti, F., Rossi, P.L. and Valdrè, G. (2009). In-field remediation of tons of heavy metal-rich waste by Joule heating vitrification. *International Journal of Mineral Processing*, 93(3-4), 239-245.
- Dubey, R. and Sharma, P. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 35-52.
- Egendorf, S.P., Groffman, P., Moore, G. and Cheng, Z. (2020). The limits of lead (Pb) phytoextraction and possibilities of phytostabilization in contaminated soil: a critical review. *International Journal of Phytoremediation*, 22, 916-930.
- Fauziah, S.H., Jayanthi, B., Emenike, C.U. and Agamuthu, C. (2017). Remediation of heavy metal contaminated soil using potential microbes isolated from a closed disposal site. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 7(4), 230-237.
- Gadd, G.M. (1994). Interactions of fungi with toxic metals, *The Genus Aspergillus*. Springer, Boston, pp. 361-374.
- Gichner, T., Žnidar, I. and Száková, J. (2008). Evaluation of DNA damage and mutagenicity induced by lead in tobacco plants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 652, 186-



190.

- Gopal, R., and Rizvi, A.H. (2008). Excess lead alters growth, metabolism and translocation of certain nutrients in radish. *Chemosphere*, 70, 1539-1544.
- Gupta, D., Nicoloso, F., Schetinger, M., Rossato, L., Pereira, L., Castro, G., Srivastava, S. and Tripathi, R. (2009). Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. *Journal of Hazardous Materials*, 172, 479-484.
- Gupta, D., Huang, H. and Corpas, F. (2013). Lead tolerance in plants: strategies for phytoremediation. *Environmental science and pollution research*, 20, 2150-2161.
- Hattab, S., Hattab, S., Flores-Casseres, M.L., Boussetta, H., Doumas, P., Hernandez, L.E. and Banni, M. (2016). Characterisation of lead-induced stress molecular biomarkers in *Medicago sativa* plants. *Environmental and experimental botany*, 123, 1-12.
- Jack, E., Hakvoort, H.W., Reumer, A., Verkleij, J.A., Schat, H. and Ernst, W.H. (2007). Real-time PCR analysis of metallothionein-2b expression in metalcolous and non-metalcolous populations of *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. *Environmental and experimental botany*, 59, 84-91.
- Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P., Baker, A., Reeves, R. and Troumbis, A. (2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews*, 83, 495-508.
- Kozhevnikova, A., Seregin, I., Bystrova, E., Belyaeva, A., Kataeva, M. and Ivanov, V. (2009). The effects of lead, nickel, and strontium nitrates on cell division and elongation in maize roots. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56, 242-250.
- Kumar, A. and Prasad, M.N.V. (2018). Plant-lead interactions: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Ecotoxicology and environmental safety*, 166, 401-418.
- Li, Y., Zhou, C., Huang, M., Luo, J., Hou, X., Wu, P. and Ma, X. (2016). Lead tolerance mechanism in *Conyza canadensis*: subcellular distribution, ultrastructure, antioxidative defense system, and phytochelatin. *Journal of plant research*, 129, 251-262.
- Macnair, M.R. (1993). The genetics of metal tolerance in vascular plants. *New phytologist*, 124, 541-559.
- Mahdavian, K., Ghaderian, S.M. and Schat, H. (2016). Pb accumulation, Pb tolerance, antioxidants, thiols, and organic acids in metalcolous and non-metalcolous *Peganum harmala* L. under Pb exposure. *Environmental and experimental botany*, 126, 21-31.
- Małacka, A., Piechalak, A., Morkunas, I., Tomaszewska, B., 2008. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum* 30, 629-637.
- Mitra, A., Chatterjee, S., Voronina, A.V., Walther, C. and Gupta, D.K. (2020). Lead toxicity in plants: a review. *Lead in plants and the environment*, 99-116.
- Mohtadi, A., Ghaderian, S.M. and Schat, H. (2012). Lead, zinc and cadmium accumulation from two metalliferous soils with contrasting calcium contents in heavy metal-hyperaccumulating and non-hyperaccumulating metallophytes: a comparative study. *Plant and soil*, 361, 109-118.
- Obiora, S.C., Chukwu, A., Toteu, S.F. and Davies, T.C. (2016). Assessment of heavy metal contamination in soils around lead (Pb)-zinc (Zn) mining areas in Enyigba, southeastern Nigeria. *Journal of the geological society of India*, 87(4), 453-462.
- Park, B. and Son, Y. (2017). Ultrasonic and mechanical soil washing processes for the removal of heavy metals from soils. *Ultrasonics sonochemistry*, 35, 640-645.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. (2004). Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and experimental botany*, 52, 199-223.
- 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*, 213, 113-136.
- Pourrut, B., Shahid, M., Douay, F., Dumat, C. and Pinelli, E. (2013). Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. *Heavy metal stress in plants*, 121-147.
- 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.
- Rucińska-Sobkowiak, R. (2016). Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(11), 1-13.
- Salehi-Eskandari, B., Ghaderian, S.M. and Schat, H. (2017). The role of nickel (Ni) and drought in serpentine adaptation: contrasting effects of Ni on osmoprotectants and oxidative stress markers in the serpentine

- endemic, *Cleome heratensis*, and the related non-serpentinophyte, *Cleome foliolosa*. *Plant and soil*, 417, 183-195.
- Salehi-Eskandari, B., Ghaderian, S.M. and Schat, H. (2018). Differential interactive effects of the Ca/Mg quotient and PEG-simulated drought in *Alyssum inflatum* and *Fortuynia garcinii*. *Plant and soil*, 428, 213-222.
- Salehi-Eskandari, B., Gahrouei, M.S., Boyd, R.S., Rajakaruna, N. and Ghasemi, R. (2022). Physiological responses to lead and PEG-simulated drought stress in metallicolous and non-metallicolous *Matthiola* (Brassicaceae) species from Iran. *South African Journal of Botany*, 150, 1011-1021.
- Shahid, M., Pinelli, E., Pourrut, B. and Dumat, C. (2014). Effect of organic ligands on lead-induced oxidative damage and enhanced antioxidant defense in the leaves of *Vicia faba* plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 144, 282-289.
- Verbruggen, N., Hermans, C. and Schat, H. (2009). Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New phytologist*, 181, 759-776.
- Wani, A., Ara, A. and Usmani, J. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary toxicology*, 8(2), 55-64.
- Weryszko-Chmielewska, E. and Chwil, M. (2005). Lead-induced histological and ultrastructural changes in the leaves of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 51, 203-212 .
- Wu, W., Wu, P., Yang, F., Sun, D.L., Zhang, D.X. and Zhou, Y.K. (2018). Assessment of heavy metal pollution and human health risks in urban soils around an electronics manufacturing facility. *Science of the Total Environment*, 630, 53-61.
- Xu, X., Zhou, Y., Mi, P., Wang, B. and Yuan, F. (2021). Salt-tolerance screening in *Limonium sinuatum* varieties with different flower colors. *Scientific reports*, 11, 1-14.
- Zhou, C., Huang, M., Li, Y. and Luo, J. (2016). Changes in subcellular distribution and antioxidant compounds involved in Pb accumulation and detoxification in *Neyraudia reynaudiana*. *Environmental science and pollution research*, 23, 21794-21804.
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad, M. and Anjum, M.Z. (2019). Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of environmental management*, 250, 109557.