

ETUDE DE LA CINÉTIQUE DE DESORPTION DU CADMIUM A PARTIR DE RACINES INTACTES DE POIS (*Pisum Sativum* L.) CULTIVE EN MILIEU HYDROPONIQUE ENRICHIS EN ZINC

Reçu le 01/03/2004 – Accepté le 30/06/2004

Résumé

De jeunes plants de pois sont soumis à une contamination par le Cd trois jours après leur germination dans une chambre obscure. Seules les racines sont au contact de la solution contenant le Cd, à des concentrations similaires à celles autorisées dans l'eau souterraine et des concentrations de Zn variables.

Après vingt jours dans ce milieu, les plantes ont été transférées dans des solutions fraîches contenant tous les éléments essentiels avec ^{109}Cd où elles sont maintenues pendant 24 heures. Après cette période, la cinétique de désorption du ^{109}Cd est mesurée à partir de racines intactes.

Les résultats montrent que la désorption du ^{109}Cd par ces racines était en corrélation positive avec la concentration du Zn dans le milieu de culture. L'addition du Zn semble être responsable de la désorption du Cd et, au-delà de tout, une réduction de la translocation et de l'accumulation dans les plants de pois.

Mots clés: Pois, *Pisum sativum*, antagonisme Cd-Zn, contamination Cd, désorption Cd.

Abstract

Pea seedlings were submitted to Cd contamination three days after their germination in dark room. Only roots were in contact with the solution containing Cd concentrations similar to those authorized in ground water and variable concentrations of Zn.

After twenty days in this medium the plants were transferred to new Erlenmeyer flasks with the culture solution free of Cd. After this period plants were transferred to a fresh solution containing all essential elements and ^{109}Cd where they were maintained during 24 hours. The ^{109}Cd desorption from intact root cells was measured.

The results showed that ^{109}Cd desorbed from these roots was positively correlated with the Zn concentration in the culture medium. Addition of Zn seems to be responsible for Cd desorption and above all the reduction of its translocation and accumulation in pea plants.

Keywords: Peas, *Pisum sativum*, Cd -Zn antagonism, Cd contamination, Cd desorption.

C. RAHMOUNE

Ecotoxicologie et Stress Abiotiques
Faculté des Sciences
Département SNV
Université Mentouri
Constantine, Algérie

R. SERIDI

Laboratoire de Biologie Végétale
Université de Annaba, Algérie

M. BENNACEUR

Biotechnologie et Physiologie Végétale
INRAT rue Hédi Karray
2049 Tunis, Tunisie

R. PAUL

Toxicologie Environnementale
FUSA Gembloux B 5030, Belgique

ملخص

أجريت التجارب على نبات الجلبان الذي لوثت أوراقه بالكدمية المشع ^{109}Cd مع كميات مختلفة من الزنك، حيث وضعت قطرات من المحلول المغذي على ورق شفاف مثبت على أربع ورقات من كل نبتة استمرت العملية 24 ساعة وبعده هذه المدة أخذت عينات ملونة ووضعت في إناء فيه محلول التغذية حيث وقع قياس كمية الكدمية المشعة التي أفرغتها الجذور في الوسط. كثير التحاليل إلى أن إضافة الزنك يسبب انخفاضاً في كمية الكدمية في أجزاء النبات مما يسبب نقصاً من الفاعلية التسمية للكدمية.

الكلمات المفتاحية: جلبان، تضاد، تلوث، Cd/Zn.

L'accumulation des ions inorganiques dans les racines est le résultat de deux processus : la fixation sur des sites chargés au sein de l'apoplasme racinaire due aux forces électrostatiques et le passage dans le symplasme [6,36].

L'absorption du Cd se ferait, comme pour tous les ions organiques, selon sa concentration dans la solution et la température, suivant deux phases : l'une active, l'autre passive [15, 35].

Ainsi, à la concentration utilisée dans notre travail, l'absorption du Cd serait active, comme cela a été rapporté pour plusieurs plantes cultivées en présence de concentrations de Cd similaires à celles que nous avons utilisées [4,13].

On considère que le Cd échangeable est retenu dans les espaces libres apparents (qui représentent 10 à 20 % du volume racinaire [20]), le Cd se déplaçant entre la solution externe et les espaces libres apparents jusqu'à un état d'équilibre, atteint après une période comprise entre 22.5 et 23 heures [27].

Ceci paraît impliquer le processus suivant : quand l'ion Cd^{++} est combiné dans les espaces libres apparents à des composés tels que les acides aminés et/ou d'autres acides, il est alors transformé en Cd non échangeable qui serait « bloqué » au niveau des racines et faiblement

transloqué vers les parties aériennes, contrairement à sa translocation lorsqu'il est sous forme ionique [18, 23].

Cette fixation entraîne une diminution de Cd dans les ELA (espaces libres apparents) d'où une entrée de celui-ci à partir de la solution extérieure [4], ce que Petit [21] lie à la création de nouveaux sites de fixation, lesquels semblent jouer un rôle prépondérant dans l'accumulation du Cd dans les plantes.

Bien qu'une partie du Cd absorbé soit retenue dans différents compartiments cellulaires [30], une fraction appréciable du Cd absorbé par les racines peut, toutefois, être désorbée [33].

Le Cd fixé sur les parois cellulaires constituerait, à la limite, un moyen réduisant l'entrée de celui-ci dans le cytoplasme, minimisant ainsi ses effets toxiques. Ceci fait que la résistance au Cd serait synonyme de sa fixation sur les parois cellulaires des racines, alors que la sensibilité, elle, serait l'expression de sa présence dans le cytoplasme [5,14,7,8].

L'altération de la relation entre influx et efflux d'éléments inorganiques est considérée par certains auteurs comme étant l'expression d'un stress nutritionnel [35], d'autres considèrent l'efflux racinaire d'un élément comme étant la première expression de la *sensibilité* des plantes à celui-ci [2], bien que le mécanisme de la toxicité des métaux lourds demeure peu élucidé [9;10]; d'où l'importance que revêt l'efflux racinaire de Cd que nous nous proposons d'étudier.

Bien que les racines soient considérées comme une « barrière » empêchant la pénétration du Cd, par différents mécanismes [34,23,19], que certains situent au niveau de l'endoderme [22], une fraction appréciable du Cd absorbé par celles-ci peut être désorbée [33,4,12,7,8], le Zn contribuant à en augmenter le taux de désorption.

Les interactions entre différents éléments minéraux présents dans la solution du sol sont à l'origine d'antagonisme à même de réduire l'accumulation de certains d'entre eux par les plantes pour le Cd et le Zn [21,17] et pour le Cd et le Ni [31], par exemple.

Les interactions Cd-Zn sont connues pour être responsables de la réduction du prélèvement du premier en présence du second en excès, que ceux-ci soient apportés par voie foliaire ou racinaire [18,26].

Pence *et al.* [19] ont montré que ce caractère est très important pour la compréhension de l'absorption et la désorption de ces éléments (Cd et Zn) chez les végétaux supérieurs.

Dans ce travail, notre objectif est de montrer que l'addition de zinc en excès dans une solution nutritive peut contribuer à augmenter la désorption du cadmium des racines de pois et diminuer ainsi son accumulation et réduire ses effets toxiques au niveau de la plante entière.

MATERIELS ET METHODES

Des plantules de pois (*Pisum sativum* L.) âgées de 3 jours sont cultivées dans des Erlenmayer pendant 20 jours en chambre de culture (17-27 °C, 8-16 h, 400 $\mu\text{E m}^{-2}\text{S}^{-1}$, HR:80%) dans une solution de type Hoagland, légèrement modifiée, de composition suivante (g l^{-1}):

Ca (NO₃)₂ 4H₂O = 40,30 ; KNO₃ = 15,15 ;

NH₄ NOH = 16 ; Mg SO₄ 7H₂O = 37;
KH₂PO₄ = 21,80 ; K₂HPO₄ = 23,30;
Cu Cl₂ 2H₂O = 0,040; Mo₇(NH₄)₆O₂₄ 4H₂O = 0,014;
Mn Cl₂ 4 H₂O = 1,800; H₃BO₃ = 2,840;
FeC₆H₅O₇ = 2,50.

Dans ce milieu, on ajoute dès le premier jour (i.e au début de l'essai) 2 $\mu\text{g l}^{-1}$ de Cd (apporté sous forme de 3CdSO₄·8H₂O) et du Zn (sous forme de ZnCl₂) à des concentrations variables : 25, 50, 100 et 150 $\mu\text{g l}^{-1}$. Après trois semaines de culture, on ajoute dans chaque Erlenmayer (en plus du Cd stable) du ¹⁰⁹CdCl₂ en solution à 1,50 $\mu\text{Ci} / 100\text{ml}$ (activité spécifique de 1,14 mCi/ μg de ¹⁰⁹Cd ; concentration volumique de 1,30 $\mu\text{g Cd/ml}$ dans HCl 0,1M.

Après un séjour de 23 heures dans les solutions ainsi tracées avec ¹⁰⁹Cd, les plantules sont utilisées pour l'étude de la cinétique de désorption racinaire du ¹⁰⁹Cd selon la méthode décrite par Rauser [27], laquelle est jugée la meilleure par Cheeseman [1].

Deux plantules (4 folioles par plantes) par concentration (4 concentrations) sont utilisées pour mesurer la désorption du ¹⁰⁹Cd.

On place les racines - non détachées des parties aériennes - dans des erlens contenant 100 ml de solution fraîche (avec les mêmes concentrations de Cd et Zn que celles apportées pendant la période de culture) sans ¹⁰⁹CdCl₂.

Les racines sont transférées dans ces solutions à des intervalles de temps de 1 ; 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 30 ; 120 ; 240 ; 480 ; 720 ; 960 ; 1200 et 1440 minutes.

Les racines sont remplacées chaque fois dans des solutions nouvelles.

Après chaque immersion, de chaque Erlenmayer nous prélevons 2 ml de la solution dans laquelle les racines ont séjourné, qu'on met dans des tubes pour comptage γ dans un appareil PERKIN ELMER.

Nous faisons 3 répétitions par échantillon de 2 ml de solution (prélevées des différentes solutions) que nous comptons durant 30mn (2x 15 minutes).

Le nombre de Cpm (coups par minute) que nous considérons est la moyenne arithmétique des deux échantillons (3 répétitions par échantillon).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les figures 1a et 1b représentent la cinétique de désorption du Cd à partir du système racinaire du pois en fonction de l'augmentation de la concentration du Zn dans la solution de culture, calculée selon une méthode proche de celle utilisée pour mesurer l'efflux de différents ions à travers les membranes racinaires [32,12] ainsi que l'application particulière de celle-ci pour l'efflux du Cd [20,27]. Ces résultats sont hautement significatifs (test de Fisher).

La désorption du Cd des racines du pois - mesurée en nombre de Cpm (coups par minute) - est caractérisée par une phase initiale élevée - durant les 30 premières minutes - suivie d'une période de désorption plus lente diminuant avec le temps jusqu'à atteindre une valeur constante en fin de période de désorption (24 heures) pour les différentes concentrations de Zn testées.

Cette désorption est similaire à celle observée pour la cinétique de désorption de Cd à partir de racines de différents végétaux tels que : *Zostera marina* [20], la tomate [22], le maïs et *Agrostis gigantea* [27].

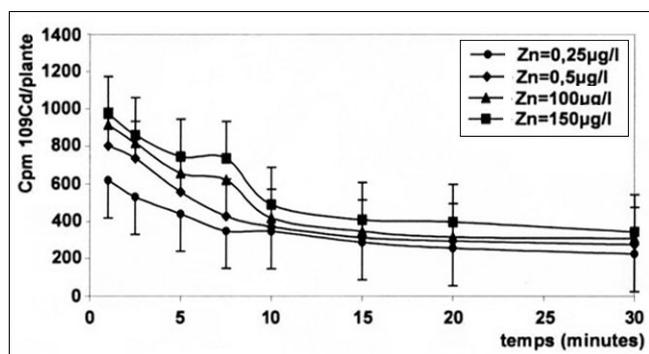


Figure 1a: Cinétique de désorption du ^{109}Cd à partir de racines intactes de pois.

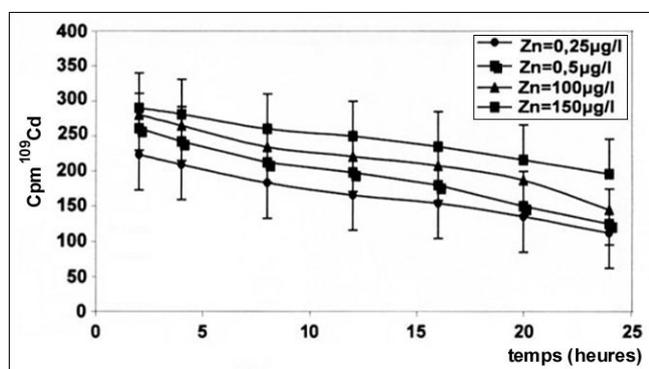


Figure 1b: Cinétique de désorption du ^{109}Cd à partir de racines intactes de pois.

Nous remarquons (Fig. 1a) que le Cd désorbé pendant les 30 premières minutes représente une grande partie (74,7 %) du total désorbé pendant 24 heures (Fig. 1b), et ce, quelle que soit la concentration en Zn (25 à 150 $\mu\text{g}\ell^{-1}$), l'apport de Cd étant constant ($2\mu\text{g}\ell^{-1}$) dans tous les essais.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Smeyers-Verbeke *et al.*, [33], qui notèrent que 55 à 85 % du Cd absorbé par les racines de froment (*Triticum aestivum L.*), cultivé en présence de 9 μM de Cd et des concentrations variables de Zn - jusqu'à 160 μM (9 ppm)-, sont désorbés pendant les premières 20 minutes. Des résultats analogues sont obtenus par Epstein & Legett (1954), cités par les auteurs précédents, pour la désorption des ions des terres rares pendant la première demi-heure par les racines excisées d'orge.

Cette grande désorption pendant la première demi-heure - jusqu'à 90% du total - est rapportée pour plusieurs éléments minéraux à partir de différents systèmes racinaires de végétaux supérieurs [6,32,1], de même que pour le ^{109}Cd [13,27, 29] et les algues [20].

Rausser and Meuwly [30] rapportent que la proportion de Cd retenue dans les racines de maïs par des composés de type γ glutamyl-cystéinyl-isopeptides augmente de 33% à 60% respectivement après 1 jour et 7 jours de culture dans une solution à 3 μM de Cd SO_4 .

Cependant, nous remarquons que l'efflux total de ^{109}Cd après 24 heures- ne représente, dans tous les cas, qu'une faible partie (<1 %) par rapport au ^{109}Cd absorbé par la plante. Ce qui corroborent nos résultats précédents quant à la grande accumulation de Cd dans les racines du pois [18], ainsi que sa fixation probable par des protéines spécifiques rapportée par d'autres auteurs [28,23,30].

Rausser [27] explique ce faible taux par la translocation de Cd vers les parties aériennes et son immobilisation au niveau des racines dans les phytochélatines. Comme il est, en outre, fortement fixé sur les parois cellulaires, ceci expliquerait sa faible désorption [6,20,27].

La fixation de Cd sur les parois cellulaires étant inversement proportionnelle à sa concentration dans la solution de culture [21], nous comprenons aisément qu'elle soit élevée à la concentration que nous utilisons ($2\mu\text{g Cd.}\ell^{-1}$) d'où la faible libération - désorption- que nous constatons.

Bien que des perturbations soient rapportées en présence de faibles concentrations de Cd ($10\mu\text{g}\ell^{-1}$) chez différentes plantes [22,23], ce faible taux de désorption du ^{109}Cd ne saurait être le résultat d'un quelconque «dommage» causé au niveau des membranes cellulaires des racines, comme certains auteurs le pensent [29], ceux-ci n'étant perceptibles, comme le rapporte Petit [21], qu'à partir de concentrations élevées en Cd dans le milieu de culture ($\approx 336\mu\text{g}\ell^{-1}$), bien supérieures à celles utilisées dans notre travail.

Nous remarquons, toutefois, que le taux de désorption de ^{109}Cd varie en sens inverse de la concentration en Zn dans la solution de culture. Ainsi, lorsqu'on passe de 25 à 50, 100, ou 150 $\mu\text{g Zn}\ell^{-1}$, la désorption de ^{109}Cd après 24 heures augmente de 11,60; 29,50 et 75% respectivement.

Ceci serait dû à la longue durée d'exposition des plantules de pois au Cd qui aurait entraîné sa forte fixation dans les différents composés présents dans les différents compartiments cellulaires, comme cela a été rapporté pour le maïs [30].

La désorption du ^{109}Cd à partir du système racinaire ne prend pas en compte la quantité de celui-ci transférée (au delà de 15 heures d'exposition) vers les parties aériennes et dans les différents compartiments cellulaires [20,27].

Ces résultats sont à rapprocher de ceux rapportés par Smeyers-Verbeke *et al.* [33] pour la désorption de Cd à partir des racines de blé (*Triticum aestivum. L.*) cultivées en aquaculture en présence de 1 $\text{mg}\cdot\ell^{-1}$ de Cd et de concentrations en Zn allant jusqu'à 10 $\text{mg}\cdot\ell^{-1}$. Ainsi, l'apport de 1,30 ; 2,60 ou 10 $\text{mg}\cdot\ell^{-1}$ dans la solution de culture induit-il une désorption de Cd de 50, 70, ou de 80% supérieure au témoin (sans apport de Zn en excès) durant le temps que dure l'expérience. Ces auteurs observent des résultats de désorption du Cd similaires quand le Zn est remplacé par du Cu, résultats comparables à ceux rapportés par Schmid *et al.* (1965) et Bowen (1969), rapportés par les auteurs précités.

Ceci serait le fait d'une compétition entre Cd et Zn ou Cu aux mêmes sites de fixation, aboutissant à l'exclusion du premier et à son remplacement par l'un ou l'autre compétiteur - Zn ou Cu - [3], ce que Rodrigo *et al.* [31] rapportent pour le Cd et le Ca.

Ces résultats constitueraient une explication aux observations que nous avons rapportées précédemment [18] quant à l'accumulation du Cd dans les plantes de pois, fortement diminuée par un apport de Zn en excès dans le milieu de culture.

Harrison *et al.* [6], travaillant sur la désorption du Cu à partir de racines excisées d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en présence de plusieurs métaux en excès en milieu hydroponique, dont le Cd, rapportent que celle-ci varie dans le même sens que la concentration de ces métaux dans la solution de culture. Le Cu désorbé provient des espaces libres des cellules racinaires et est le résultat d'une compétition pour les sites de fixation avec les autres métaux comme nous l'avons noté plus haut pour le Zn et Cd dans notre travail.

Les résultats rapportés par O'Keefe *et al.* [16] pour la désorption de ^{109}Cd par des racines de la jacinthe cultivée en aquiculture avec des concentrations plus élevées que précédemment (Cd = 0,100 ppm et Zn de 0 à 6 ppm) sont en accord avec les nôtres, car, dans ce cas aussi, la désorption du ^{109}Cd des racines varie dans le même sens que la concentration de Zn dans la solution de culture, ce que nos résultats corroborent. Ces auteurs notent une augmentation (+ 30 %) dans la quantité de ^{109}Cd désorbé des racines de jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes* L.) quand on apporte du Zn (rapport molaire Cd/Zn = 1/100) dans une solution cadmiée (10 μM).

CONCLUSIONS

La désorption du cadmium des racines de pois (*Pisum sativum* L.) est fortement liée à la concentration en Zn dans la solution de culture et serait l'explication partielle de la diminution de la teneur en Cd des racines quand on apporte du Zn en excès dans le milieu de culture.

Nous constatons aussi, que la compétition pour les sites de fixation entre Cd et Zn pourrait être expliquée par la variation de l'efflux du premier cité, quand le second est apporté en excès dans la solution de culture.

Ceci nous conduit à exprimer qu'un apport de Zn en excès dans le milieu de culture peut constituer, aux faibles concentrations, une technique à même de réduire les effets phytotoxiques du Cd d'une part, et un moyen de réduire l'accumulation du Cd dans les plantes cultivées destinées à la consommation animale et humaine, d'autre part.

REFERENCES

- [1]- Cheeseman J.M., "Compartmental efflux of low concentrations: an evaluation of the technique and its limitations", *Plant Physiol.*, 80, (1986), pp.1006-1011.
- [2]- Coccuci M. and Sacchi G.A., "Effects of rubidium and potassium efflux from subapical segments of maize roots", *Plant Physio. Biochem.*, 31(1), (1993), pp.9-16.
- [3]- Dabin P., Marafante E., Mousny J.M. and Myttenaere C., "Absorption, distribution and binding of cadmium and zinc in irrigated rice plants", *Plant Soil*, 50, (1978), pp.329-341.
- [4]- Fujomito T. and Uchida Y., "Cadmium absorption by rice absorption plants. I. Mode of the absorption", *Soil Sci. Plant Nutr.*, 25, (1979), pp.407-415.
- [5]- Grill E., Winnacker E.L. and Zenk M.H., "Phytochelatin: the principal heavy-metal complexing peptides of high plants", *Science*, 230, (1985), pp.674-676.
- [6]- Harrison S.J, Lepp N.W and Phipps D.A., "Uptake of copper by excised roots II. Copper desorption from the free space", *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, 94, (1979), pp.27-34.
- [7]- Kanazawa S. and Mori K., "Isolation of Cadmium-resistant bacteria and their resistance mechanisms. Part 1. Isolation of Cd-resistance bacteria from soils contaminated with heavy metals", *Soil Sci. Plant. Nutr.* 42(4), (1996 a), pp.725-730.
- [8]- Kanazawa S. and Mori K., "Isolation of Cadmium-resistant bacteria and their resistance mechanisms. Part 2. Cadmium biosorption by Cd-resistant and sensitive bacteria", *Soil Sci. Plant. Nutr.*, 42(4), (1996b), pp.731-736.
- [9]- Kirk G.J.D., "Use of modelling to understand nutrient acquisition by plants", *Plant Soil*, 247, (2002), pp.123-130.
- [10]- Kochian L.V, Pence N.S., Letham D.L.D., Pineros M.A., Magalhaes J.V., Hoekenga O.A. and Garvin D.F., "Mechanisms of metal resistance in plants: aluminium and heavy metals", *Plant Soil*, 247, (2002), pp.109-119.
- [11]- Kusaba M., Takahashi Y. and Nagata T., "A multiple-Stimuli- Responsive as-1- Related Element of Gene Confers Responsiveness to Cadmium but not to Copper", *Plant Physiol.*, 11, (1996), pp.1161-1167.
- [12]- Lefebvre D.D., and Clarkson D.T., "Compartmental analysis of phosphate in roots of intact barley seedlings", *Can. J. Bot.*, 62, (1984), pp.1076-1080.
- [13]- Mullins G.L. and Sommers L.E. "Cadmium and zinc influx characteristics by intact corn (*Zea mays* L.) seedlings", *Plant Soil*, 96, (1986), pp.153-164.
- [14]- Nishizono H., Ichikawa H., Suzuki S. and Ishii F., "The role of root cell wall in the heavy metal tolerance of *Arthrum yokoscence*", *Plant Soil*, 101, (1987), pp.15-20.
- [15]- Nissen P., "Uptake mechanism: Inorganic and organic", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25, (1974), pp.53-79.
- [16]- O'Keefe D.H., Hardy J.K. and Rao R.A., "Cadmium uptake by water hyacinthe: effects of solution factors", *Environ. Pollut.*, 34, (1984), pp.133-147.
- [17]- Parkpian P., Thananusorn V., Reuthergardth L. and Eiumnoh A., "Micronutrients and cadmium uptake of soybean plants in solution culture", *Proc. Symp. "Foliar Fertilisation: A Technique to Improve Production and Decrease Pollution"*, 10-14 Dec. Cairo, Egypt. Eds El-Fouly, M.M. *et al.*, Publ. NCR, Cairo (1998), pp.189-194.
- [18]- Paul R., Rahmoune C. et Délcarte E., "Bioaccumulation du Cadmium par les végétaux", *Annales de Gembloux*, 97, (1991), pp.133-147.
- [19]- Pence N.S., Larsen P.B., Ebbs S.D., Letham D.L.D., Lasat M.M., Garvin D.F., and Kochian L.V., "The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*", *Proc. Natil. Acad. Sci. USA*, 97(9), (2000), pp.4956-4960.
- [20]- Penello W.F. and Brinkhuis B.H., "Cadmium and manganese flux in eelgrass *Zostera marin* L. Modeling dynamics of metal release from labelled tissues", *Marine Biology*, 58, (1980), pp.181-186.
- [21]- Petit C.M., "Uptake, translocation and localisation of cadmium in tomato plants (*Lycopersicon esculculum* Mill.)", *PhD Thesis* Fac. Agricult. Sci., Cath.Univ., Louvain, Belgium, (1976), 126p.
- [22]- Petit C.M., and Van de Geijn S.G., "In vivo measurement of cadmium (^{115}M Cd) transport and accumulation in stems of intact tomato plants. (*Lycopersicon esculculum* Mill.). I. Long distance transport and local accumulation", *Planta*, 138, (1978), pp.137-143.
- [23]- Rahmoune C., "Interactions entre le cadmium et le zinc chez le pois (*Pisum sativum* L.) en culture hydroponique", Thèse Doc. FUSA, Gembloux (Belgique), (1992), 152p.

- [24]- Rahmoune C., Hubrecht F., Paul R. et Baudart E., "Acides aminés totaux et inhibition de la phytotoxicité du Cadmium par le Zinc", *Arch. Inter. Physiol. Bioch.*, 96(5), (1988), p.41.
- [25]- Rahmoune C., Paul R., et Dreze P., "Effects of Zn on Foliar absorption of Cadmium", *Proc. Symp. "Foliar Fertilisation: A Technique to Improve Production and decrease Pollution"*, 10-14 Dec. Cairo, Egypt. Eds El-Fouly, M.M. *et al.*, Publ. NCR, Cairo (1998), pp.181-184.
- [26]- Rahmoune C., Seridi R., Dreze P. and Paul R., "Influence of the Zn concentration in solution applied to leaves and roots on the absorption and translocation of Cd by leaves", *DIRASAT Agricultural Sciences*, 20(1), (2000), pp.72-77.
- [27]- Rauser W.E., "Compartmental efflux analysis and removal of extra cellular cadmium from roots", *Plant Physiol.*, 85, (1987), pp.62-65.
- [28]- Rauser W.E., "Cadmium-binding peptides of plants", *Methods Enzym.*, 205, (1991), pp.319-330.
- [29]- Rauser W.E., and Ackerley R., "Localization of cadmium in granules within differentiating and nature of root cells", *Can. J. Bot.*, 65, (1987), pp.643-646.
- [30]- Rauser W.E. and Meuwly P., "Part of Cadmium in roots is bound thiolate isopeptides", *Plant Physiol.*, 102(1)Sup., (1993), p.163.
- [31]- Rodrigo M., Escrig I., Martine-Cortina C., Lopez-Benet F.J. and Sanz A., "Heavy metal accumulation in rice plant on mineral nutrition and interaction of plant hormones", *Plant Physiol.*, 102(1)Sup., (1993), p.177.
- [32]- Rygiewicz P.T., Blendsoe C.S. and Glass A.D.M., "A comparison of methods for determining compartmental analysis parameters", *Plant Physiol.*, 76, (1984), pp.913-917.
- [33]- Smeyers-Verbeke J. DeGraeve M., Francois M., De Jagere R. and Massart D.L., "Cd uptake by intact wheat plants", *Plant Cell Environ.*, 1, (1978), pp.291-296.
- [34]- Weigel H.J. and Jager H., "Subcellular distribution and chemical form of cadmium in beans plants", *Plant Physiol.*, 64, (1980), pp.480-482.
- [35]- Wieneke J., "Altered influx /efflux relations of nitrate in roots due to nutrient stress. I: Effect of phosphorus and zinc deprivation", *J. of Plant Nutr.*, 18(8), (1995), pp.1547-1561.
- [36]- Zheng Y.B., Lyons T., Ollereshaw J.H. and Barnes J.D., "Ascorbate in the leaf apoplast is a factor mediating ozone resistance in *Plantago major*", *Plant Physiol. Biochem.*, 38, (2000), pp.403-411. □