

بررسی تاثیر سولفات مس بر صفات جوانه‌زنی و ساختار تشریحی اندام‌های رویشی شبدرك (*Melilotus officinalis* L.)

فاطمه نژاد حبیب‌وش^۱، مژده دانشگر^{۲*} و آیدین صادقی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۰۳/۳۰

چکیده

مس یک عنصر ریزمغذی گیاه است، به گونه‌ای که کمبود آن متابولیسم گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مقدار زیاد مس باعث ایجاد سمیت در گیاه از طریق ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر سطوح مختلف سولفات مس بر جوانه‌زنی بذور و ساختار تشریحی شبدرك در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. تنش اعمال شده در این آزمایش شامل سطوح مختلف سولفات مس با غلظت‌های صفر (تیمار شاهد)، ۱، ۳، ۴ و ۷ میلی‌گرم در لیتر بود. نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در سطح ۵ درصد معنی دار نبود، اما طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطح ۵ درصد معنی دار بودند. همچنین، سولفات مس باعث کاهش طول ساقه و ریشه و انشعابات ریشه گردید. در برگ با افزایش سطوح سولفات مس، ضخامت مزوفیل برگ کاهش یافت. کمترین ضخامت مزوفیل برگ در تیمار ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس یافت شد (۵۶۰/۰۳۳ میکرومتر). در ریشه با افزایش غلظت سولفات مس، ضخامت پارانشیم، آوند آبکش و آوند چوبی کاهش پیدا کرد. کمترین مقدار ضخامت پارانشیم، آوند آبکش و آوند چوبی در تیمار ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس مشاهده شد (۱۷۹/۹۶، ۱۰۰/۰۳۳ و ۱۵۰/۰۳۳ میکرومتر). تنش مس باعث افزایش ضخامت بافت‌های ساقه به استثنای کوتیکول شد.

کلمات کلیدی: درصد جوانه‌زنی، آوند چوبی، بنیه بذر.

^۱ - استادیار گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی، ایران

* نویسنده مسئول: f.nejadhabibvash@urmia.ac.ir

^۲ - دانشجوی گیاهان دارویی، گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی، ایران

مقدمه

خاک به عنوان منبع اصلی تغذیه معدنی گیاهان توسط آلاینده‌های بسیاری با غلظت‌ها و ترکیبات مختلف مورد آلودگی قرار گرفته است (۲ و ۱۷). یک دسته از این آلاینده‌ها فلزات سنگین هستند که از طریق فعالیت‌های بشر و فرسایش طبیعی سنگ‌ها می‌توانند به بیوسفر وارد شوند (۲۵). در این میان فلز سنگین مس (Cu) عنصری کم مصرف، اما ضروری برای همه گیاهان عالی است (۴ و ۲۰). دارای نقش‌های متابولیک فراوانی در گیاه است. زمانی که غلظت آن در خاک از سطح بسیار اندک تجاوز کند، به شدت سمی می‌شود (۴) و می‌تواند به دلیل اثرات بالقوه بازدارنده روی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و شیمیایی سمیت زیادی بر سلول‌های گیاه ایجاد کند، به‌طوری که با تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به سطح سلولی شود که این آسیب در مورد عنصر مس به خوبی فلزات دیگر مستند شده است (۱، ۱۵ و ۲۵). میزان سمیت مس بسته به نوع گیاه و غلظت بحرانی آن متفاوت است (۳۳). جذب فلزات سنگین و تجمع توسط گیاهان عالی به مواردی از جمله ماهیت و نوع فلزات، عوامل خاک و ویژگی‌های خود گیاه بستگی دارد (۱۳).

برای اکثر گونه‌های موجود، سطح بحرانی سمیت مس در برگ‌ها بیش از ۳۰-۲۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک است (۳۵ و ۶).

افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک منجر به جذب و تجمع این فلزات در بخش‌های خوراکی گیاهان و در نتیجه ایجاد خطر برای سلامتی موجودات زنده می‌شود (۷ و ۳۷). جوانه‌زنی شامل یک سری اتفاقاتی است که در نتیجه آن جنین از حالت سکون به حالت متابولیسمی فعال و سازنده تغییر شکل می‌دهد (۱۸).

جوانه‌زنی و رشد و نمو دانه رست‌ها مراحل مهمی از زندگی گیاه کامل و همچنین حساس‌ترین مراحل زندگی گیاه نسبت به تغییرات محیط پیرامون هستند. بنابراین مطالعه مهار این مراحل در گیاهانی که در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته‌اند، راه مناسبی برای درک اثرات سمی آن‌ها بر گیاهان محسوب می‌شود. در همین زمینه به بررسی تأثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در سه گونه اکالیپتوس پرداختند و گزارش کردند که سمیت

عنصر مس، کادمیوم، سرب و روی بر شاخص بنیه بذر تأثیر منفی داشته و موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر گردید (۳۳). در مطالعات دیگر رسولی و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی تأثیر مس بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد *Sanguisorba minor* بیان نمودند که غلظت‌های اعمال شده مس و نیکل بر همه مولفه‌های رشد گونه توت روباهی اثر معنی داری داشته است و با افزایش غلظت مس و نیکل، شاهد کاهش معنی‌دار مولفه‌های رشد این گونه می‌باشیم (۲۶). همچنین در مطالعات صابری و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تأثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های *Atriplex lentiformis* مشخص گردید که غلظت‌های اعمال شده کادمیوم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و سولفات مس بر درصد جوانه‌زنی بذرهای این گونه اثر معنی‌داری نداشت اما بر روی طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، گیاهچه و بنیه بذر اثر معنی‌دار داشته است. به‌طوری که اعمال غلظت‌های مختلف این دو فلز سنگین، باعث کاهش معنی‌دار مولفه‌های رشد گردید (۲۷). ویدینگ و همکاران (۲۰۰۵) بیان داشتند که با افزایش غلظت مس، طول ریشه‌چه در گیاه *Arabidopsis* کاهش یافت (۳۶). محمود و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی تأثیر سطوح مختلف مس و روی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت (*Zea mays* L.) پرداختند (۲۱). نتایج آن‌ها نشان داد که جوانه‌زنی تحت تأثیر هیچ کدام از تیمارها قرار نگرفت، در حالی که رشد اولیه با افزایش غلظت سولفات روی به شدت محدود شد. گیاه شبدرك (*Melilotus officinalis* L.) متعلق به خانواده Fabaceae است. این گیاه، یک گیاه مرتعی است. با توجه به ارزش غذایی فراوان جهت تغذیه دام و ارزش دارویی این گیاه (۱۴)، پژوهش حاضر به بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف محلول سولفات مس بر جوانه‌زنی بذر و ساختار درونی گیاه شبدرك می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

برای انجام بررسی اثر غلظت‌های مختلف سولفات مس در مرحله جوانه‌زنی بذر گیاه شبدرك و مطالعه ساختار تشریحی این گیاه، بذر این گونه از رویشگاه طبیعی آن در شهرستان ارومیه جمع‌آوری گردید. منطقه مورد نظر از نظر تقسیم‌بندی آمبرژه جز اقلیم نیمه‌مرطوب و سرد محسوب

به‌طور هم زمان از بخش های یکسان گیاهان شاهد و تحت تیمار انجام گرفت. سپس ساقه، برگ و ریشه در تثبیت کننده الککل اتانول- گلیسرین (۱:۱) برای تهیه برش‌های دستی (دو هفته) قرار گرفتند. پس از مقطع‌گیری و رنگ آمیزی مضاعف (سبز متیل و کارمن زاجی) مقاطع با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. ساختار تشریحی نمونه‌های شاهد و تحت تیمار، مقایسه، تفاوت‌های موجود یادداشت و از مقاطع با استفاده از دوربین دیجیتالی عکس برداری شد. صفات جوانه‌زنی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک و تر ساقه‌چه و ریشه‌چه و شاخص بنیه بذر محاسبه گردید (۲۷). تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده در آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۱ انجام گرفت. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه به وسیله ANOVA و مقایسه میانگین‌ها نیز به طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

در بررسی آزمایش جوانه‌زنی، ۱۰ صفت شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه و بنیه بذر مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه (ANOVA) در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان داد که طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطح ۵ درصد معنی دار بودند (جدول ۱). همان‌طور که ملاحظه می‌شود تأثیر سطوح مختلف سولفات مس بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و طول ساقه‌چه معنی دار نیست، ولی در بقیه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی دار آماری وجود دارد.

می‌شود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشات مربوط به جوانه‌زنی و ۴ تکرار در بررسی تشریحی، در آزمایشگاه خاک مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. بذور سالم و کامل این گیاه که در زیر لوپ با توجه به رنگ، شفافیت و توپر بودن از بذور نارس و سبز رنگ، جداسازی شدند، با آب ژاول ۵ درصد ضدعفونی و درون پلیت‌های استریل برای جوانه‌زنی قرار داده شدند (۲۷) و تیماردهی به صورت روزانه با محلول سولفات مس در پنج سطح غلظت (تیمارشاهد)، ۱،۳، ۴ و ۷ میلی‌گرم در لیتر انجام گرفت. همزمان، جهت کشت گلدانی، فاکتور مس در پنج سطح ۰ (تیمارشاهد)، ۱،۳، ۴ و ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) تهیه شد. مقدار پنج کیلوگرم خاک داخل پاکت‌های پلاستیکی ریخته شد و مطابق نقشه طرح، سطوح مختلف مس به صورت محلول از منبع سولفات مس به خاک داخل پاکت‌ها اضافه گردید. پس از رسانیدن رطوبت خاک به حد ظرفیت زراعی، خاک موجود در هر کیسه به خوبی مخلوط شد تا در تمام قسمت‌ها یکنواخت گردد. مقدار مس موجود در خاک قبل از آزمایش به روش اسپوزیتو و همکاران (۱۹۸۲) تعیین شد (۳۱) و مقدار آن ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. خاک مورد استفاده دارای بافت رسی - سیلتی، $\text{pH} = 7/3$ و هدایت الکتریکی ۰/۱۳ میلی‌موس بود. جهت کشت، خاک داخل پاکت‌ها به گلدان‌های پلاستیکی مربوط به هر تیمار منتقل گردید. ۱۰ عدد بذر داخل گلدان کاشته شدند. آبیاری گلدان‌ها تا پایان به وسیله آب مقطر تا رسیدن به ظرفیت مزرعه همراه با توزین مرتب آن‌ها صورت گرفت. ظرفیت زراعی به روش وزنی محاسبه گردید. آبیاری به فواصل زمانی یک روز در میان انجام گرفت. پس از گذشت سه ماه، جهت بررسی ساختار تشریحی گیاهان مورد مطالعه، نمونه برداری

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه شبدرك (*Melilotus officinalis* L.)

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	df	مجموع مربعات	منبع تغییرات	صفات
۰/۳۲n	۱/۶۷۲	۵۸۹/۶۲۶	۴	۲۳۵۸/۵۰۴	بین گروهی	درصد جوانه‌زنی
		۳۵۲/۶۱۲	۱۰	۳۵۲۶/۱۱۹	درون گروهی	
			۱۴	۵۸۸۴/۶۲۲	کل	
۰/۲۳n	۱/۶۷۴	۰/۰۹۲	۴	۰/۳۶۹	بین گروهی	سرعت جوانه‌زنی
		۰/۰۵۵	۱۰	۰/۵۵۱	درون گروهی	
			۱۴	۰/۹۲۰	کل	
۰/۲۳n	۱/۶۷۲	۳/۰۰۸	۴	۱۲/۰۳۰	بین گروهی	متوسط جوانه‌زنی روزانه
		۱/۷۹۹	۱۰	۱۷/۹۹۰	درون گروهی	
			۱۴	۳۰/۰۲۰	کل	
۰/۰۱۴n	۵/۴۵۶	۲/۷۰۳	۴	۱۰/۸۱۱	بین گروهی	طول ساقه چه
		۰/۴۹۵	۱۰	۴/۹۵۳	درون گروهی	
			۱۴	۱۵/۷۶۴	کل	
۰/۰۰*	۱۴۶/۱۶۷	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	بین گروهی	وزن خشک ریشه‌چه
		۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۰/۰۰۰	کل	
۰/۰۰*	۶۴/۳۷۵	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	بین گروهی	وزن خشک ساقه‌چه
		۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۰/۰۰۰	کل	
۰/۰۲۸*	۴/۲۸۷	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	بین گروهی	وزن تر ساقه‌چه
		۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۰/۰۰۰	کل	
۰/۰۰*	۳۲/۶۴۳	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	بین گروهی	وزن تر ریشه‌چه
		۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۰/۰۰۰	کل	
۰/۰۰*	۱۸۷/۲۱۲	۳/۲۴۵	۴	۱۲/۹۸۰	بین گروهی	طول ریشه‌چه
		۰/۰۱۷	۱۰	۰/۱۷۳	درون گروهی	
			۱۴	۱۳/۱۵۳	کل	
۰/۰۰*	۴۴۲۲۸۰۱۵۶۶	۸۹۰۴۵/۷۳	۴	۳۵۶۱۸۲/۹۵	بین گروهی	بنیه بذر
		۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۳۵۶۱۸۲/۹۵	کل	

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد ، n1: غیر معنی دار

اثر سطوح مختلف سولفات مس بر درصد و سرعت جوانه‌زنی:

در تحقیق صورت گرفته، مقایسه میانگین داده‌های مورد مطالعه نشان داد که ابتدا غلظت‌های سولفات مس تاثیر چندانی در درصد و سرعت جوانه‌زنی نداشت (جدول ۲). اما با افزایش غلظت، سولفات مس از جوانه‌زنی بذرها جلوگیری می‌کند، به طوری که بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد (۴۸/۸۸ و ۰/۶۱۰)، ۱ میلی‌گرم در لیتر (۴۸/۸۸ و ۰/۶۱۰) و ۳ میلی‌گرم در لیتر (۴۸/۸۸ و ۰/۶۱۰) بود که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و کم‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر بود (۲۲/۲۲ و ۰/۲۷۷) که اختلاف

معنی‌داری بین این دو وجود نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی تیمار شاهد و غلظت‌های ۱، ۳، ۴ و ۷ میلی‌گرم در لیتر در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند (جدول ۲).

اثر سطوح مختلف مس سولفات بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه:

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد گیاه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش می‌یابد. به‌طوری که بیشترین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه به‌ترتیب متعلق به تیمار شاهد

خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که بیشترین وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه به ترتیب متعلق به تیمار شاهد (۰/۰۲۸۳ و ۰/۰۰۰۸ گرم؛ ۰/۰۱۶ و ۰/۰۰۰۸ گرم) و ۱ میلی گرم در لیتر سولفات مس (۰/۰۲۳۰ و ۰/۰۰۰۷ گرم؛ ۰/۰۱۴ و ۰/۰۰۰۷ گرم) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه در تمامی سطوح غلظت مس سولفات مس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۲).

(۵/۶ و ۴/۷ میلی‌متر) و ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود (۵/۲ و ۴/۱۶ میلی‌متر) (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که طول ریشه‌چه تیمار شاهد و غلظت‌های ۱، ۳، ۴ و ۷ میلی‌گرم در لیتر و طول ساقه‌چه در غلظت ۷ میلی‌گرم در لیتر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

اثر سطوح مختلف مس سولفات بر وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه :

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد گیاه، وزن تر و

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف سولفات مس بر صفات مورد بررسی شبدرک با روش دانکن

صفات	شاهد	۱ (میلی گرم در لیتر)	۳ (میلی گرم در لیتر)	۴ (میلی گرم در لیتر)	۷ (میلی گرم در لیتر)
درصد جوانه‌زنی (درصد)	۴۸/۸۸a	۴۸/۸۸a	۴۸/۸۸a	۲۴/۴۴a	۲۲/۲۲a
سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز)	۰/۶۱۰a	۰/۶۱۰a	۰/۶۱۰a	۰/۳۰۴a	۰/۲۷۷a
متوسط جوانه‌زنی روزانه (روز)	۳/۴۹a	۳/۴۹a	۳/۴۹a	۱/۷۴a	۱/۵۸a
طول ریشه‌چه (میلی متر)	۴/۷۰a	۴/۱۶b	۳/۴۰c	۳/۰۶d	۲/۰۰e
طول ساقه‌چه (میلی متر)	۵/۶۰a	۵/۲۰a	۴/۸۰a	۴/۳۶a	۱۳/۱۳b
وزن تر ساقه‌چه (میلی گرم)	۰/۰۲۸۳a	۰/۰۲۳۰bc	۰/۰۱۸۶abc	۰/۰۱۲۶bc	۰/۰۱۱۶c
وزن تر ریشه‌چه (میلی گرم)	۰/۰۱۶a	۰/۰۱۴b	۰/۰۱۳c	۰/۰۱۲d	۰/۰۱۰e
وزن خشک ساقه‌چه (میلی گرم)	۰/۰۰۰۸a	۰/۰۰۰۷b	۰/۰۰۰۵c	۰/۰۰۰۴d	۰/۰۰۰۲e
وزن خشک ریشه‌چه (میلی گرم)	۰/۰۰۰۸a	۰/۰۰۰۷b	۰/۰۰۰۵c	۰/۰۰۰۴d	۰/۰۰۰۱e
بنیه بذر	۴۹۸/۵۷ a	۴۵۸/۵۸b	۴۰۰/۸۱c	۱۸۱/۳۴d	۱۱۳/۹۷d

میانگین‌ها، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

و این تاثیر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که سطوح سولفات مس ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر با هم اختلاف معنی‌دار آماری دارند ولی سطوح ۴ و ۷ میلی گرم در لیتر با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند (جدول ۲). بیشترین میزان بنیه بذر مربوط به شرایط عدم تنش و غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس (به‌ترتیب، ۴۹۸/۵۷ و ۴۵۸/۵۸) و کمترین میزان بنیه بذر متعلق به تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود (۱۱۳/۹۷).

بررسی تشریحی:

نتایج حاصل از بررسی ساختار تشریحی در این پژوهش نشان می‌دهد که سمیت محلول سولفات مس ساختار تشریحی گیاه را تحت تاثیر خود قرار داده است (جداول ۸-۳ و شکل‌های ۲۵-۱).

اثر سطوح مختلف سولفات مس بر متوسط جوانه‌زنی روزانه:

طبق جدول مقایسه میانگین‌ها با افزایش غلظت سولفات مس از میزان متوسط جوانه‌زنی روزانه بذور شبدرک کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه مربوط به تیمار شاهد، ۱ و ۴ میلی‌گرم در لیتر بود (۳/۴۹) که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر (۱/۷۴) و ۷ (۱/۵۸) بود که اختلاف معنی‌داری بین این دو وجود نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که متوسط جوانه‌زنی روزانه در تمامی سطوح غلظت معنی‌دار نبود (جدول ۲).

بنیه بذر:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شاخص بنیه بذر تحت تاثیر غلظت سولفات مس قرار گرفته

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه ریشه شبدرك

معنی‌داری	F	میانگین مربعات	df	مجموع مربعات	منبع تغییرات	صفات
۰/۰۰۰*	۱۵۹۲۰/۱۲۰۰	۳۹۸/۰۰۳	۴	۱۵۹۲/۰۱۲	بین گروهی	اپیدرم
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۱۵۹۲/۰۵۰	کل	
۰/۰۰۰*	۶۰۸۲۴۰/۸۰۰	۱۵۲۰/۶۰۲	۴	۶۰۸۲/۴۰۸	بین گروهی	گزلیم
		۰/۰۰۲	۱۵	۰/۰۳۷	درون گروهی	
			۱۹	۶۰۸۲/۴۴۶	کل	
۰/۰۰۰*	۴۵۱۱۳۶/۲۰۰	۱۱۲۷۸/۴۰۳	۴	۴۵۱۱۳/۶۱۲	بین گروهی	فلوئم
		۰/۰۰۲	۱۵	۰/۰۳۷	درون گروهی	
			۱۹	۴۵۱۱۳/۶۴۹	کل	
۰/۰۰۰*	۱۴۰۱/۸۲۰	۱۱۲۷۰۹/۸۰۳	۴	۴۵۰۸۳۹/۲۱۲	بین گروهی	پارانشیم پوستی
		۸۰/۴۰۳	۱۵	۱۲۰۶/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۴۵۲۰۴۵/۲۵۰	کل	
۰/۰۰۰*	۴۲۵۲۸۰/۰۰۰	۱۰۶۳/۲۰۰	۴	۴۲۵۲/۸۰۰	بین گروهی	پروتوگزلیم
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۴۲۵۲/۸۳۸	کل	
۰/۰۰۰*	۶۷۴۶۲۶/۱۲۵	۱۷۹۹/۰۰۳	۴	۷۱۶۹/۰۱۲	بین گروهی	متاگزلیم
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۴۰	درون گروهی	
			۱۹	۷۱۶۹/۰۵۲	کل	

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۴: تأثیر سطوح مختلف سولفات مس بر ساختار تشریحی ریشه شبدرك

غلظت (میلی گرم در کیلوگرم)	کوتیکول (μm)	اپیدرم (μm)	فلوئم (μm)	گزلیم (μm)	پارانشیم پوستی (μm)	پروتوگزلیم (μm)	متاگزلیم (μm)
شاهد	۹/۹۶۶a	۳۰/۰۳۳a	۲۰۰/۰۳۳a	۲۰۰/۰۳۳a	۵۸۶/۶۳۳a	۶۰/۰۳۳a	۸۰/۰۳۳a
۱	۱۰/۰۰a	۳۰/۰۳۳b	۲۰۰/۰۳۳a	۱۹۰/۰۳۳b	۴۰۰/۰۳۳b	۴۰/۰۳۳b	۶۰/۰۳۳b
۳	۱۰/۰۰a	۳۹/۹۹۶b	۱۱۰/۰۳۳b	۱۶۹/۰۳۳c	۳۰۰/۰۳۳c	۳۰/۰۳۳c	۴۹/۹۹۶c
۴	۱۰/۰۰a	۴۹/۹۹۶c	۱۰۰/۰۳۳b	۱۷۰/۰۳۳c	۲۰۰/۰۳۳d	۲۵/۰۳۳d	۳۰/۰۳۳d
۷	۱۰/۰۰a	۴۹/۹۹۶c	۱۰۰/۰۳۳c	۱۵۰/۰۳۳d	۱۷۹/۹۶c	۱۸۰/۳۳e	۳۰/۰۳۳d

میانگین‌ها، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

ساختمان آناتومی ریشه شبدرك:

نتایج حاصل از مطالعه برش‌های عرضی ریشه در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ‌نمایی‌های مختلف، نشان داد که سطوح مختلف مس تأثیر محسوسی بر ساختمان ریشه داشت (شکل‌های ۱۰-۱). گیاه با افزایش غلظت سولفات مس و برای مقابله با تنش، ضخامت اپیدرم خود را افزایش داد (جدول ۴). با افزایش غلظت سولفات مس، ضخامت پارانشیم پوستی، آوند آبکش، آوند چوبی، متاگزلیم و پروتوگزلیم ریشه کاهش یافت. به‌طوری که

بیشترین اندازه مربوط به تیمار شاهد و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود (جدول ۴). مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که پارانشیم در تمامی سطوح غلظت سولفات مس، آوند چوبی در تیمار شاهد، ۱ و ۷ میلی‌گرم در لیتر، آوند آبکش در تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳ و ۴). مس موجود در ریشه‌ها یا کورتکس بیشتر به صورت متصل به دیواره سلولی است (۶).

جدول ۵: آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه ساقه شیدرک

معنی داری	F	میانگین مربعات	df	مجموع مربعات	منبع تغییرات	صفات
۰/۹۹۸n	۳/۰۰	۰/۰۰۲	۴	۰/۰۰۸	بین گروهی	کوتیکول
		۰/۰۰۱	۱۵	۰/۰۰۱	درون گروهی	
			۱۹	۰/۰۱۸	کل	
۰/۰۰۰*	۶۴۰۸۰/۱۵۰	۳۲۰/۴۰۱	۴	۱۲۸۱/۶۰۳	بین گروهی	اپیدرم
		۰/۰۰۵	۱۵	۰/۰۷۵	درون گروهی	
			۱۹	۱۲۸۱/۶۷۸	کل	
۰/۰۰۰*	۲۴۶/۱۱۲	۱۴۰۷۲۷/۳۰۳	۴	۵۶۲۹۰۹/۲۱۲	بین گروهی	پارانشیم پوستی
			۱۵	۸۵۷۷/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۵۷۱۴۸۶/۲۴۹	کل	
۰/۰۰۰*	۹۶۹۶۰۰/۱۲۵	۳۸۷۸/۴۰۰	۴	۱۵۵۱۳/۶۰۲	بین گروهی	فلوئم
		۰/۰۰۴	۱۵	۰/۰۶۰	درون گروهی	
			۱۹	۱۵۵۱۳/۶۶۲	کل	
۰/۰۰۰*	۲۸۸۰۰۰/۰۰۰	۷۲۰/۰۰۰	۴	۲۸۸۰/۰۰۰	بین گروهی	گزلیم
		۰/۰۰۲	۱۵	۰/۰۳۷	درون گروهی	
			۱۹	۲۸۸۰/۰۳۸	کل	
۰/۰۰۰*	۱۷۰۰۰/۰۰۰	۴۲/۵۰۰	۴	۱۷۰/۰۰۰	بین گروهی	پروتوگزلیم
		۰/۰۰۲	۱۵	۰/۰۳۷	درون گروهی	
			۱۹	۱۷۰/۰۳۸	کل	
۰/۰۰۰*	۲۵۰۰۰/۰۰۰	۶۲/۵۰۰	۴	۲۵۰/۰۰۰	بین گروهی	متاگزلیم
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۲۵۰/۰۳۸	کل	

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد و n: غیر معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۶- تأثیر سطوح مختلف سولفات مس بر آناتومی ساقه شیدرک (*Melilotus officinalis* L.)

غلظت (میلی گرم در کیلوگرم)	کوتیکول (μm)	اپیدرم (μm)	فلوئم (μm)	گزلیم (μm)	پارانشیم پوستی (μm)	پروتوگزلیم (μm)	متاگزلیم (μm)
شاهد	۹/۹۶a	۴۰/۰۰a	۹۹/۹۶a	۱۰۹/۹۶a	۷۰۰/۰۳۳a	۱۲/۴۶۶a	۲۲/۴۶۶a
۱	۱۰/۰۰a	۳۵/۰۰b	۸۹/۹۶b	۱۰۹/۹۳۳a	۵۸۶/۶۳۳b	۹/۹۶۶b	۱۹/۹۶۶b
۳	۱۰/۰۰a	۲۹/۹۶c	۸۹/۹۶b	۶۹/۹۶b	۴۰۰/۰۳۳c	۷/۴۶۶c	۱۷/۴۶۶c
۴	۱۰/۰۰a	۲۰/۰۰d	۶۹/۹۶c	۵۹/۹۶c	۲۷۶/۶۳۳d	۴/۹۶۶d	۱۴/۹۶۶d
۷	۱۰/۰۰a	۱۹/۹۶d	۶۹/۹۶c	۳۹/۶۹d	۲۷۶/۶۳۳d	۴/۹۶۶d	۱۲/۴۶۶e

حروف لاتین نشان دهنده نتایج مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد. میانگین ها، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

جدول شماره ۷: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه برگ شیدرک (*Melilotus officinalis* L.)

Sig.	F	میانگین مربعات	df	مجموع مربعات	منبع تغییرات	صفات
۰/۰۰۰*	۶۸۲۹۱/۰۳۶	۳۱۳/۲۲۸	۴	۱۲۵۲/۹۱۳	بین گروهی	اپیدرم فوقانی
		۰/۰۰۵	۱۵	۰/۰۶۹	درون گروهی	
			۱۹	۱۲۵۲/۹۸۲	کل	
۰/۰۰۰*	۷۵۹۷۲۰/۱/۲۰۰	۱۸۹۹۳/۰۰۳	۴	۱۳۵۲۳۱۳/۱۲۲	بین گروهی	مزوفیل
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۳۰	درون گروهی	
			۱۹	۱۳۵۲۳۱۳/۱۵۲	کل	
۰/۰۰۰*	۷۵۹۷۲۰/۱/۲۰۰	۱۸۹۹۳/۰۰۳	۴	۷۵۹۷۲/۰۱۲	بین گروهی	پهنک برگ
		۰/۰۰۳	۱۵	۰/۰۳۸	درون گروهی	
			۱۹	۷۵۹۷۲/۰۵۰	کل	
۰/۰۰۰*	۱۶۹۱۶۴۱۴۰/۲	۳۳۸۳۲۸/۲۸۱	۴	۶۹۳/۶۸۰	بین گروهی	اپیدرم تحتانی
		۰/۰۰۲	۱۵	۰/۰۰۱	درون گروهی	
			۱۹	۶۹۳/۶۸۰	کل	

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

جدول شماره ۸- تأثیر سطوح مختلف سولفات مس بر آناتومی برگ شبدرک (*Melilotus officinalis* L.)

غلظت (میلی گرم در کیلو گرم)	اپیدرم تحتانی (μm)	اپیدرم فوقانی (μm)	مزوفیل (μm)	پهنک برگ (μm)
شاهد	۴۵/۰۳۳a	۴۹/۹۶۶c	۷۶۰/۰۳۳a	۸۳۹/۹۹۶e
۱	۴۸/۰۳۳b	۵۰/۰۳۳c	۷۳۰/۰۳۳b	۸۰۹/۹۶۶d
۳	۵۲/۰۳۳c	۵۰/۰۳۳c	۷۱۰/۰۳۳c	۸۰۰/۰۳۳c
۴	۵۵/۰۳۳d	۵۹/۹۶۶b	۶۳۰/۰۰۰e	۷۲۹/۹۶۶b
۷	۶۲/۰۳۳e	۶۹/۹۶۶a	۵۶۰/۰۳۳d	۶۷۰/۰۳۳a

حروف لاتین نشان دهنده نتایج مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد. میانگین‌ها، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

ساختمان آناتومی ساقه شبدرک:

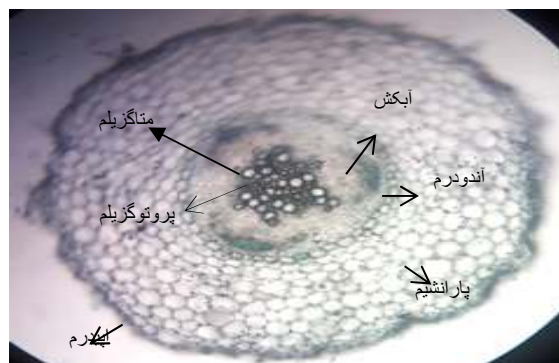
نتایج به‌دست آمده از مطالعه برش‌های عرضی ساقه (شکل‌های ۱۸-۱۱) که در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ نمایی‌های مختلف صورت گرفت، نشان داد، سطوح مختلف مس تأثیر مشخصی بر ساختمان ساقه شبدرک داشت. در نتایج حاصل از این تحقیق، با افزایش سطوح غلظت سولفات مس، ضخامت کوتیکول افزایش یافت (جدول ۶). همچنین مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که ضخامت کوتیکول در تمامی سطوح غلظت سولفات مس در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۵ و ۶). ضخامت اپیدرم و پارانشیم با ایجاد تنش کاهش یافت (جدول ۶). همچنین مقایسه میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که ضخامت اپیدرم و پارانشیم در شاهد و سطوح غلظت سولفات مس ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵ و ۶). ضخامت آوند آبکش و چوب با افزایش غلظت سولفات مس کاهش یافت (جدول ۶).

ساختمان آناتومی برگ شبدرک:

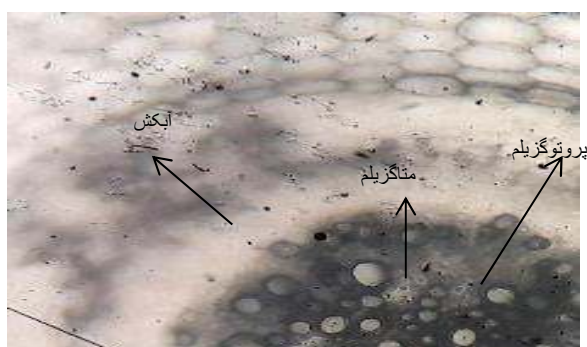
نتایج به‌دست آمده از مطالعه برش‌های عرضی برگ (شکل‌های ۲۵-۲۱) که در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ نمایی‌های مختلف صورت گرفت، نشان داد، سطوح مختلف مس تأثیر مشخصی بر ساختمان برگ شبدرک داشتند. در برش عرضی برگ، این تأثیر بر روی اپیدرم فوقانی، تحتانی و مزوفیل برگ قابل مشاهده است. نتایج بررسی شده در تحقیق حاضر، نشان داد که ضخامت کل برگ در شبدرک با افزایش سطوح غلظت مس کاهش یافت و همچنین با افزایش مس، ضخامت مزوفیل برگ کاهش یافت. به‌طوری که، بیشترین مقدار در تیمار شاهد و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس مشاهده شد (جدول ۸). همچنین مقایسه میانگین صفت مورد نظر نشان داد که ضخامت کل برگ و مزوفیل در تمامی سطوح غلظت سولفات مس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۷ و ۸).



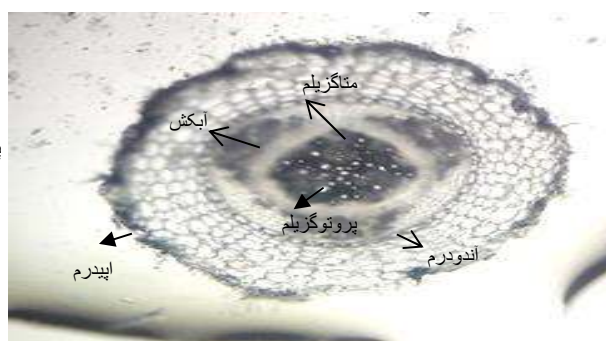
شکل ۲: آوندهای ریشه شاهد شبدرک (×۴۰)



شکل ۱: ریشه شاهد شبدرک (×۱۰)



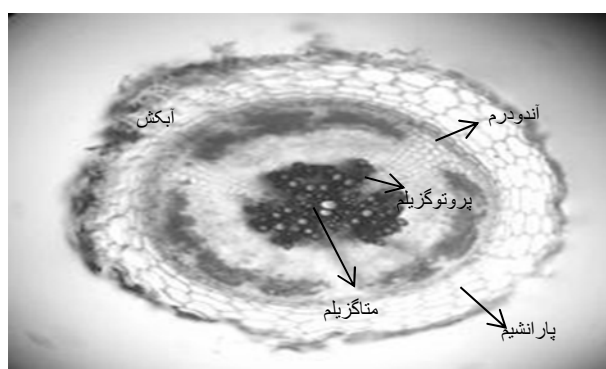
شکل ۴: آون های ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۳: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



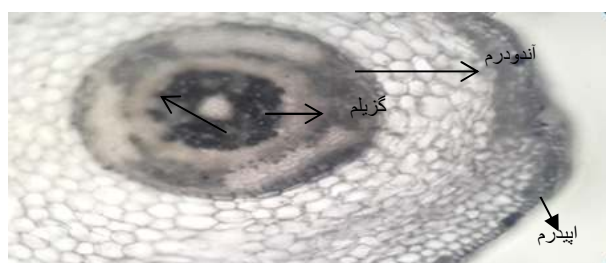
شکل ۶: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۳ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۵: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۳ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



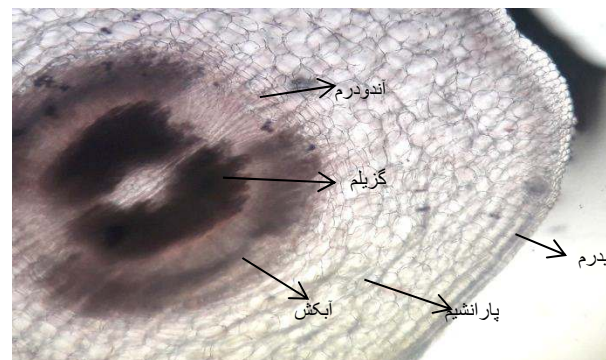
شکل ۸: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



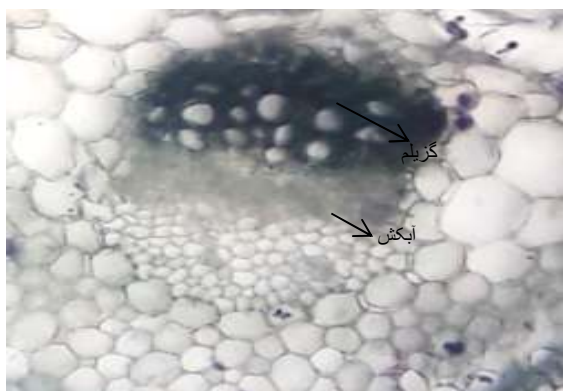
شکل ۷: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



شکل ۱۰: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۹: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



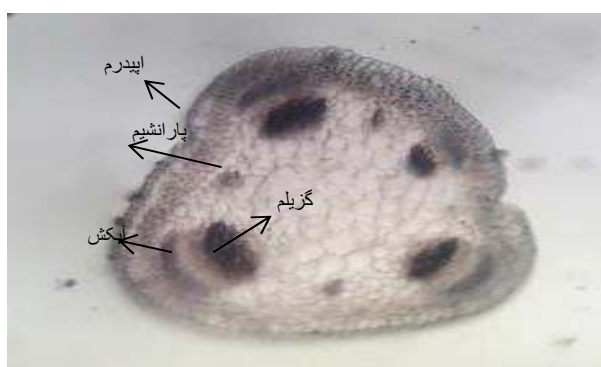
شکل ۱۲: آوندهای ساقه شاهد شبدرک (×۴۰)



شکل ۱۱: ساقه شاهد شبدرک (×۱۰)



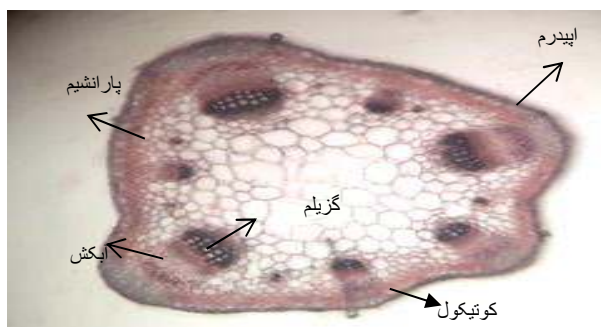
شکل ۱۴: آوندهای ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس (×۴۰)



شکل ۱۳: ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس (×۱۰)



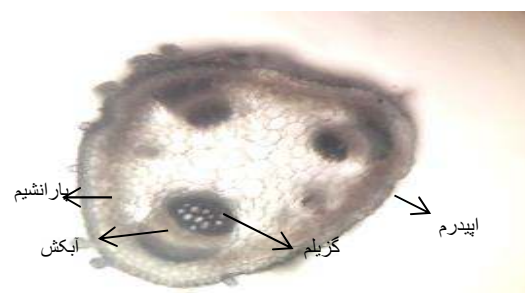
شکل ۱۶: آوندهای ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس (×۴۰)



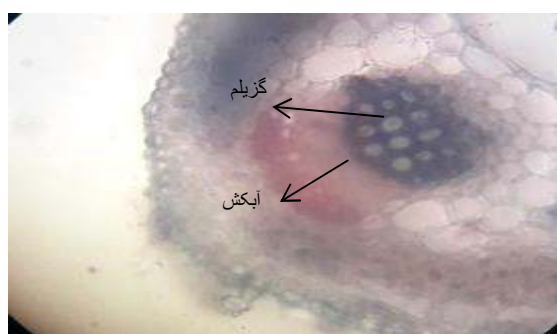
شکل ۱۵: ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس (×۱۰)



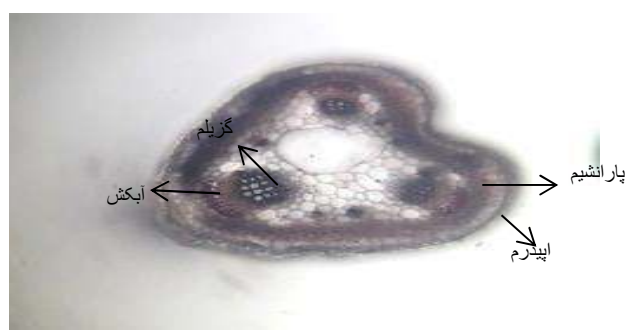
شکل ۱۸: آوندهای ساقه شیدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۱۷: ساقه شیدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



شکل ۲۰: آوند های ریشه شیدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۱۹: ریشه شیدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



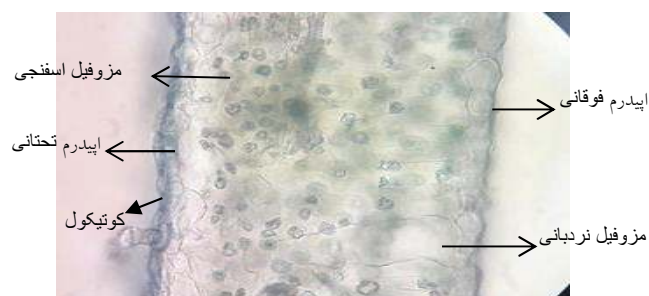
شکل ۲۲: برگ شیدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۲۱: برگ شاهد شیدرک ($\times 40$)



شکل ۲۴: برگ شیدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۲۳: برگ شیدرک تیمار شده با غلظت ۳ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۲۵: برگ شبدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس (۴۰×)

بحث و نتیجه‌گیری

تحمل عناصر سنگین در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به عنوان کلید استقرار گیاهان تحت شرایط محدود کننده است. پاسخ به تنش‌های محیطی در گیاهان عالی یک پدیده پیچیده و غیرقابل انکار می‌باشد. نتایج کلی بدست آمده از این بررسی نشان می‌دهد که غلظت‌های اعمال شده سولفات مس اثرات سوء بر مؤلفه‌های رشد *Melilotus officinalis* L. داشته و موجب اختلال در رشد می‌شوند. جوانه‌زنی و رشد و نمو دانه رست‌ها مراحل مهمی از زندگی گیاه کامل و همچنین حساس‌ترین مراحل زندگی گیاه نسبت به تغییرات محیط پیرامون هستند. بنابراین مطالعه مهار این مراحل در گیاهانی که در معرض آلاینده‌ها قرار گرفته‌اند راه مناسبی برای درک اثرات سمی آن‌ها بر گیاهان محسوب می‌شود. طبق بررسی سطوح مختلف سولفات مس بر درصد و سرعت جوانه‌زنی با افزایش سطوح سولفات مس، سرعت و درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. در آزمایشی روی بذر کلم چینی مشاهده شد که غلظت‌های پایین مس، سرعت جوانه‌زنی کلم چینی را افزایش داد، در حالی که غلظت‌های بالا اثر بازدارندگی داشته و جوانه‌زنی بذر و همچنین سرعت جوانه‌زنی را کاهش داد (۲۰). در مطالعه‌ای که در گیاه برنج انجام شد، سرعت جوانه‌زنی در اثر آلودگی مس کاهش پیدا کرد (۱). اخیراً در مطالعه‌ای گزارش شد که تیمار بذر گندم با عنصر مس با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و بالاتر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود (۱۵). اکثر اطلاعاتی که در دسترس هستند، اثرات سمی فلزات بر جوانه‌زنی را نشان می‌دهند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند. و همچنین افزایش سطوح مس سولفات باعث کاهش میزان طول ساقه و ریشه شد. در پژوهش مشابهی، حضور ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر مس از رشد ریشه ذرت جلوگیری نمود (۲۲). بر اساس مطالعه‌ای،

جلوگیری از طویل شدن ریشه در حضور فلزات سنگین به تداخل فلز با تقسیم سلولی، شامل تحریک انحرافات کروموزمی و میتوز غیرطبیعی نسبت داده شد (۱۵). بر اساس آزمایش‌هایی که در گیاه برنج انجام شد، طول اندام هوایی، زیست‌توده گیاهی و محتوای آب در اثر آلودگی مس کاهش پیدا کرد. به‌طوری که در غلظت بالاتر از ۰/۵ میلی مولار ریشه و غلظت بالاتر از ۱/۲ تشکیل اندام هوایی متوقف گردید (۱). در پژوهش دیگر گزارش شده که طول گیاهچه به سمیت فلزات سنگین بسیار حساس است (۱۷) و با نتایج این پژوهش مطابقت دارند.

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت سولفات مس در محیط رشد گیاه، وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش می‌یابد. در خصوص کاهش رشد مشاهده شده در گیاهان مورد آزمایش، در گزارش‌های متعددی بیان شده که غلظت زیاد مس در محلول غذایی موجب کاهش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی چمن بنت‌گراس (۱۰)، ذرت (۶)، آفتابگردان (۹) و همچنین کاهش رشد ریشه و ساقه در گیاه علفی *Chloris gayana* گزارش شده است (۳۳) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند.

روند تغییرات اثر سطوح مختلف فلز سنگین سولفات مس بر بنیه بذر نشان داد که با افزایش در سطح تنش این صفت به طور معنی‌داری کاهش یافت که نتیجه این مطالعه با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد (۲۷، ۳۳ و ۳۴).

گیاه شبدرک با افزایش غلظت سولفات مس و برای مقابله با تنش ضخامت اپیدرم خود را افزایش داد (جدول ۴). با افزایش غلظت سولفات مس پارانشیم پوستی، آوند آبکش، آوند چوبی، متاگزیم و پروتوگزیم ریشه کاهش یافت. در درجه اول تاثیر مس بر گیاه بر روی طویل شدن و تقسیم سلولی ریشه است و کاهش در عرض پارانشیم ریشه

مس موجود در ریشه‌ها یا کورتکس بیشتر به صورت متصل به دیواره سلولی است (۸). تصور می‌شود که اتصال Cu^{+2} به صورت مستقیم یا با جایگزینی قسمتی از Ca^{+2} دیواره سلولی انعطاف‌پذیری آن را کاهش داده، در نتیجه موجب کاهش رشد برگ و در نتیجه کاهش ضخامت مزوفیل و کل برگ در حضور مس اضافی می‌شود (۳۵) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

بنابراین، نتایج آزمون جوانه‌زنی گیاه شبدرک در گروه‌های تیماری مختلف با سولفات مس نشان داد که افزایش غلظت مس از جوانه‌زنی جلوگیری می‌کند که این امر نشانه سمیت بالای محلول‌هایی است که غلظت‌هایی بالاتر از ۳ میلی گرم در لیتر دارند. تیمارهایی با غلظت پایین تر از غلظت مزبور، از جوانه زنی کامل جلوگیری نکردند، با این حال با افزایش غلظت سولفات مس کاهش جوانه‌زنی در گیاهان تحت تیمار مشاهده شد. در تحقیقی روی جوانه‌زنی و رشد آرابیدوپسیس گزارش شد که رشد گیاهچه نسبت به جوانه‌زنی، حساسیت بیشتری داشت. سمیت فلزات سنگین در مراحل مختلف فیزیولوژیکی بذر، متفاوت خواهد بود (۱۹). نتایج نشان داد، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشتند. مس می‌تواند از طریق اعمال تأثیرات زیان بار بر فرآیندهای فیزیولوژیک مهم موجب ناهنجاری‌هایی در رشد و نمو گیاه شود (۳۰). نتایج حاصل از ساختار تشریحی در این پژوهش نشان می‌دهد که سمیت محلول سولفات مس ساختار تشریحی گیاه را تحت تأثیر خود قرار داده است.

عمدتاً نتیجه کاهش در اندازه متوسط سلول‌ها بود (۲۳). کاهش ناشی از تأثیر مس در اندازه سلول شامل تمام سلول‌های ریشه، قطر آوندهای چوبی و آبکش و کاهش ضخامت استوانه مرکزی و در نتیجه کاهش قطر ریشه می‌شود (۱۶). کاهش در قطر متاگزیم به عنوان یکی از عوامل موثر بر ظرفیت انتقال لوله آوندی به‌شمار می‌آید (۲۴). کاسیم (۱۶) مشاهده کرد که مس باعث کاهش معنی‌دار قطر ریشه شده و عنوان نمود که مهم‌ترین علت کاهش قطر ریشه، کاهش مشخص ضخامت بافت‌های پارانشیمی این اندام بوده است. نتایج این تحقیق با نتایج صالح و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت.

در نتایج حاصل از این تحقیق، با افزایش سطوح غلظت سولفات مس، ضخامت کوتیکول افزایش یافت (جدول ۶). مطالعات اندکی در مورد بررسی اثر فلزات سنگین بر خصوصیات آناتومیکی گیاهان صورت گرفته است. طی مطالعه ای اثر مس را روی خصوصیات آناتومیکی سورگوم نشان داد. تیمار مس باعث کاهش در قطر آوندهای چوبی در ساقه و ریشه در پاسخ به تیمارهای فلزات سنگین بود. در کل، نتایج این تحقیق با نتایج صالح و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت.

سطوح مختلف مس تأثیر مشخصی بر ساختمان برگ شبدرک داشتند. در برش عرضی برگ، این تأثیر بر روی اپیدرم فوقانی، تحتانی و مزوفیل برگ قابل مشاهده است. طبق بررسی پژوهشگران دیگر (۱۲) با افزایش غلظت مس، ضخامت اپیدرم فوقانی و تحتانی برگ افزایش یافت که با نتایج بررسی فوق مطابقت دارد. افزایش اپیدرم برگ یک استراتژی برای به حداقل رساندن از دست دادن آب در اثر تعرق است (۳).

نتایج بررسی شده در تحقیق حاضر، نشان داد که ضخامت کل برگ و مزوفیل برگ در شبدرک با افزایش غلظت مس کاهش یافتند که با نتایج دیگر پژوهشگران (۴)، ۸، ۲۵، ۳۲ و ۳۸) مطابقت دارد.

References

1. Ahsan, N., D.G. Lee., S.H. Lee., K.Y. Kang., J.J. Lee., P.J. Kim., H.S. Yoon & H.B. Lee, 2007. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere*, 67(6): 1182–1193.
2. Alipoor, A.H., H. Darvari., H. Zare Mayvan & M. Sharifi, 2009. Evaluation of rate of radish peroxidase activity and its relationship with heavy metals in soil. *Journal of Science, University of Tehran*, 35(1): 37-43. (In Persian).
3. Alves, E.S., P.M. Giusti & M. Domingos, 2001. Anatomic studies on *Tradescantia hibrid* clone 4430 leaves: changes caused by urban airpollution. *Revista Brasileira de Botânica*, (in Portuguese, with abstrac in English). 24: 561-566.
4. Barcelo, J., M.D. Vazquez & C. Poschenrieder, 1988. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants. (*Phaseolus vulgaris* L.). *New Phytologist*, 108: 37-49.
5. Berglund, H., M.F. Quartacci & C. Liljenberg, 2000. Changes in plasma-membrane lipid composition: a strategy for acclimation to copper stress. *Biochemical Society Transactions*, 28(6): 905-908.
6. 6-Chaffai, R., A. Tekitek & E. El-Ferjani, 2005 Comparative Effects of copper and cadmium on growth and lipid content in maize seedlings (*Zea mays* L.). *Pak. J. Biol. Sci.*, 8 (4): 649-655.
7. Dalvand, M., A.H. Hamidian, M.A. Zareh Chahuki, B. Motashareh Zadeh, S.A. Amir Jalili & A. Esmail Zadeh, 2014. The concentration of Cu, Pb, Zn and Mn in shoot of *Artemisia* sp. In the surrounding pastures Valley copper mine barberry, Taft city, Yazd province. *Journal of Rangeland*, 8(3):219-229. (In Persian).
8. Eleftheriou, E.P. & S. Karataglis, 1989. Ultrastructural and morphological characteristics of cultivated wheat growing on copper-polluted fields. *Botanica Acta*, 102: 134-140.
9. El-Tayeb, M. A., A.E. El-Enany & N.L. Ahmed, 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regul.*, 50:191-199.
10. Eskandari, S., V. Mozafari & A. Ajabadipour, 2011. Effects of copper and salinity on some physiological and anatomical indices of two *Pistachio* cultivars under greenhouse conditions. *Journal of Water and Soil*, 24(6): 1210-1223. (In Persian)
11. Faust, M.B. & N.E. Christians, 2000. Copper reduces shoot growth and root development of creeping Bentgrass. *Crop Science*, 40:498-502.
12. Gomes, M.P., M.T. Marques., M.O. Nogueira., E.M. Castro & A.M. Soares, 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, 68(5): 566-573.
13. Hashemi, M., H. AzarnivAND., M. H. Asare & A. Tavili. 1393. Effects of drought stress on germination and groeth of the germ Tuesday znvtyp indicator species *Agropyron poderae*. *Journal of Rangeland*, (3):212-218. (In Persian).
14. Heshmati, G. A., M. Baghani & O. Bazrafshan, 2009. Comparison of nutritional values of 11 rangeland species in eastern part of Golestan province. *Pajouhesh & Sazandegi*, 73: 90-95. (In Persian).
15. Houshmandfar, A. & F. Moraghebi, 2011. Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower. *Afr. J. Agric. Res.*, 6(5): 1182-1187.
16. Kasim, W.A., 2006. Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Int. J. Agric. Biol.*, 1:123-128.
17. Kranner, I. & L. Colville, 2011. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. *Environ Exp Bot.*, 72: 93–105.
18. Kuchaki, E. & M. Nasiri Mahalati. 1992. Ecology of agricultural plant, Vol I, Plant and environmental relates, Ferdosi Mashhad University Press, 291p. (In Persian).
19. Lin, D & B. Xing., 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environ. Pollut.*, 150: 243-250.
20. Liu, T.F., T. Wang., C. Sun & Y.M. Wang, 2009. Single and joint toxicity of cypermethrin and copper on Chinese cabbage (Pakchoi) seeds. *J. Hazard. Mater.*, 163(1): 344–348.
21. Mahmood, S., A. Hussain., Z. Zaeed & M. Athar, 2005. Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under varying levels of copper and zinc. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 2(3): 269-274.
22. Mukhtar, I. 2008. Influence of *Trichoderma* species on seed germination in Okra. *Mycopath*, 6 (1&2): 47-50.
23. Pasternak, T., V. Rudas., G. Potters & M.A.K. Jansen, 2005. Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in Arabidopsis thaliana seedlings. *Environ. Exper. Bot.*, 53: 299-314.
24. Poschenrieder, C & J. Barceló., 1999. Water relations in heavy metal stressed plants, In: Prasad, M.N.V. and J. Hagemeyer (eds.), *Heavy Metal Stress in Plants*. The Springer, Berlin. pp: 20-29.
25. Raissi, M.A., Z. Asrar & Sh. Pourseyedi, 2010. Interaction of sodium nitroprusside and copper on som growth and physiologic parameter of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, 1(1-2): 56-77. (In Persian).

26. Rasuli, D., B. Fakheri., S. Farhadvand & A. Minayi, 2013. The effect of different levels of Cu and Ni on germination and growth of *Sanguisorba minor* L. Journal of Rangeland, 7(3):202-211. (In Persian).
27. Saberi, M., M. Tavili., M. Gafari & M. Heidari, 2010. The effect of different levels of heavy metals on germination and seedling growth of *Atriplex lentiformis*. Journal of Rangeland, 4(1): 202-221. (In Persian)
28. Salah, M., H. Gawayed & O.A. Almaghrabi, 2013. Effect of copper and cadmium on germination and anatomical structure of leaf and root seedling in Maize (*Zea mays* L). Aust. J. Basic & Appl. Sci., 7(1): 548-555.
29. Shariat, A. & M.H. Asareh, 2006. Effects of different levels of heavy metals on seed germination and seedling growth of three *Eucalyptus* species. Journal of Genetics and Pasture and Forest Plants Breeding in Iran, 14(1):38-46. (In Persian).
30. Sheldon, A. & N. W. Menzies, 2004. The effect of copper toxicity on the growth and morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana*) in solution culture. J. Am. Sci., 8: 1-8.
31. Sposito, G., L.J. Lund & A.C. Chang, 1982. Trace metal chemistry in aridzone amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am. J., 46: 260-264.
32. Srighar, B.B.M., S.V. Diehl., F.X. Han., D.L. Monts & Y. Su, 2005. Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). Environ. Exp. Bot., 54: 131-141.
33. Sossé, B. A., P. Genet., F. V. Dunand., M. L. Toussaint., D. Epron & P. M. Badot, 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. Plant Science, 166: 1213-1218.
34. Tabatabaei, S.A. & O. Ansari, 2016. Effect of Cu (SO₄) stress and plant growth regulators on germination characteristics and biochemical changes on *Brassica napus*. Iranian Journal of seed Reserch, 3(1):109-121. (In Persian)
35. Vassilev, A., F. Lidon., J. C. Ramalho., M. Doceumatos & M. Graca, 2003. Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of Barley Plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. J. Central Europ. Agric., 4: 225-236.
36. Weiqiang, L.I., M.A. Khan, S.H. Yamaguchi & Y. Kamiya, 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. Plant Growth Regul., 46: 45-50.
37. Zhuang, P., M.B. McBride., H. Xia., N. Li & Z. Li, 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. Sci. Total Environ., 407:1551-1550.
38. Zhao, F.J., E. Lombi., T. Breendon & S.P. M.C. Grath, 2000. Zinc hyper accumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. Plant Cell Environ., 23: 507-514.