

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

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

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

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 بذر و ساختار تشریحی شبدرک 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 مزوپیل برگ کاهش یافت. کمترین ضخامت مزوپیل 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 ۱۰۰/۰۳۳ 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

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 تاثیر 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 معنی دار مولفه‌های رشد این گونه می‌باشیم (۲۶). همچنین در مطالعات صابری و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تاثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانهزنی و رشد گیاهچه‌های *Atriplex lenticiformis* مشخص گردید که غلظت‌های اعمال شده کادمیوم بر درصد و سرعت جوانهزنی و سولفات‌های مس بر درصد جوانهزنی بذرها این گونه اثر معنی داری نداشت اما بر روی طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، گیاهچه و بنیه بذر اثر معنی دار داشته است. به طوری که اعمال غلظت‌های مختلف این دو فلز سنگین، باعث کاهش معنی دار 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 تاثیر 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 سولفات‌های روی به شدت محدود شد. گیاه شبدر ک (*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 تاثیر غلظت‌های مختلف محلول سولفات‌های مس بر جوانهزنی بذر و ساختار درونی گیاه شبدر ک می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

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

مقدمه

خاک به عنوان منبع اصلی تغذیه معدنی گیاهان توسط آلاینده‌های بسیاری با غلظت‌ها و ترکیبات مختلف مورد آلدگی 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، به طوری 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 ۲۰-۳۰ 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

به طور هم زمان از بخش های یکسان گیاهان شاهد و تحت تیمار انجام گرفت. سپس ساقه، برگ و ریشه در تشییت کننده الكل اتابول- گلیسیرین (۱:۱) برای تهییه برش های دستی (دو هفته) قرار گرفتند. پس از مقطع گیری و رنگ آمیزی مضاعف (سبز متیل و کارمن زاجی) مقاطع با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. ساختار تشریحی نمونه های شاهد و تحت تیمار، مقایسه، تفاوت های موجود یادداشت و از مقاطع با استفاده از دوربین دیجیتالی عکس برداری شد. صفات جوانه زنی شامل درصد و سرعت جوانه زنی، متوسط جوانه زنی روزانه، طول ساقه چه و ریشه چه، وزن خشک و تر ساقه چه و ریشه چه و شاخص بنیه بذر محاسبه گردید (۲۷). تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده در آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۱ انجام گرفت. تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه به وسیله ANOVA و مقایسه میانگین ها نیز به طریق آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

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

می شود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشات مربوط به جوانه زنی 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 لوب با توجه به رنگ، شفافیت و توپر بودن از بذور نارس و سبز رنگ، جداسازی شدند، با آب ژاول ۵ درصد ضدعفونی و درون پلیت های استریل برای جوانه زنی قرار داده شدند (۲۷) و تیماردهی به صورت روزانه با محلول سولفات مس در پنج سطح غلظت (تیمار شاهد)، ۱، ۳، ۴ و ۷ میلی گرم در لیتر انجام گرفت. شمارش جوانه زنی پس از ۱۴ روز که پس از آن هیچ بذر جوانه زده دیده نشد، در گروه های مختلف تحت تیمار انجام گرفت. همزمان، جهت کشت گلدانی، فاکتور مس در پنج سطح ۰ (تیمار شاهد)، ۱، ۳، ۴ و ۷ میلی گرم در کیلو گرم خاک از منبع سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) تهییه شد. مقدار پنج کیلو گرم خاک داخل پاکت های پلاستیکی ریخته شد و مطابق نقشه طرح، سطوح مختلف مس به صورت محلول از منبع سولفات مس به خاک داخل پاکت ها اضافه گردید. پس از رسانیدن رطوبت خاک به حد ظرفیت زراعی، خاک موجود در هر کیسه به خوبی مخلوط شد تا در تمام قسمت ها یکنواخت گردد. مقدار مس موجود در خاک قبل از آزمایش به روش اسپوزویتو و همکاران (۱۹۸۲) تعیین شد (۳۱) و مقدار آن ۱ میلی گرم در کیلو گرم بود. خاک مورد استفاده دارای بافت رسی - سیلتی، $\text{pH} = ۷/۳$ و هدایت الکتریکی $۰/۱۳$ میلی موس بود. جهت کشت، خاک داخل پاکت ها به گلدان های پلاستیکی مربوط به هر تیمار منتقل گردید. ۱۰ عدد بذر داخل گلدان کاشته شدند. آبیاری گلدان ها تا پایان به وسیله آب مقطر تا رسیدن به ظرفیت مزرعه همراه با توزیع مرتب آن ها 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 شبدرک (*Melilotus officinalis L.*)

صفات	منبع تغییرات	مجموع معیلات	df	میانگین معیلات	F	معنی داری
درصد جوانهزنی	بین گروهی	۲۳۵۸/۵۰۴	۴	۵۸۹/۶۲۶	۱/۶۷۲	.۰/۳۲۵
	درون گروهی	۳۵۲۶/۱۱۹	۱۰	۳۵۲/۶۱۲		
	کل	۵۸۸۴/۶۲۲	۱۴			
سرعت جوانهزنی	بین گروهی	۰/۳۶۹	۴	۰/۰۹۲	۱/۶۷۴	.۰/۲۳۵
	درون گروهی	۰/۰۵۱	۱۰	۰/۰۵۵		
	کل	۰/۹۲۰	۱۴			
متوسط جوانهزنی روزانه	بین گروهی	۱۲/۳۰	۴	۳/۰۰۸	۱/۶۷۲	.۰/۲۳۵
	درون گروهی	۱۷/۹۹۰	۱۰	۱/۷۹۹		
	کل	۳۰/۰۲۰	۱۴			
طول ساقه چه	بین گروهی	۱۰/۸۱۱	۴	۲/۷۰۳	۵/۴۵۶	.۰/۰۱۴۵
	درون گروهی	۴/۹۵۳	۱۰	۰/۴۹۵		
	کل	۱۵/۷۶۴	۱۴			
وزن خشک ریشه‌چه	بین گروهی	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	۱۴۶/۱۶۷	.۰/۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰		
	کل	۰/۰۰۰	۱۴			
وزن خشک ساقه‌چه	بین گروهی	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	۶۴/۳۷۵	.۰/۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰		
	کل	۰/۰۰۰	۱۴			
وزن تر ساقه‌چه	بین گروهی	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	۴/۲۸۷	.۰/۰۲۸*
	درون گروهی	۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰		
	کل	۰/۰۰۰	۱۴			
وزن تر ریشه‌چه	بین گروهی	۰/۰۰۰	۴	۰/۰۰۰	۳۲/۶۴۳	.۰/۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۰۰	۱۰	۰/۰۰۰		
	کل	۰/۰۰۰	۱۴			
طول ریشه‌چه	بین گروهی	۱۲/۹۸۰	۴	۳/۲۴۵	۱۸۷/۲۱۲	.۰/۰۰*
	درون گروهی	۰/۱۷۳	۱۰	۰/۰۱۷		
	کل	۱۳/۱۵۳	۱۴			
بنیه بذر	بین گروهی	۳۵۶۱۸۲/۹۵	۴	۸۹۰۴۵/۷۳	۴۴۲۲۸۰۰۱۵۶۶	.۰/۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۰	۱۰	۰/۰۰۰		
	کل	۳۵۶۱۸۲/۹۵	۱۴			

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

معنی داری 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 معنی دار آماری نداشتند (جدول ۲).

اثر سطوح مختلف مس سولفات بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه:

نتایج به دست 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 به ترتیب متعلق به تیمار شاهد

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 ۱۰/۶۱۰) میلی‌گرم در لیتر (۴۸/۸۸ و ۰/۶۱۰) و ۳ میلی‌گرم در لیتر (۴۸/۸۸ و ۰/۶۱۰) بود که اختلاف معنی داری با هم نداشتند و کمترین درصد و سرعت جوانهزنی مربوط به تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر بود (۲۲/۲۲ و ۰/۲۷۷)

خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش می‌یابد. به‌طوری که 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 (۱ میلی گرم در لیتر سولفات مس (۰/۰۰۰۷) 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)	۲۲/۲۲a
درصد جوانه‌زنی (درصد)	۴۸/۸۸a	۴۸/۸۸a	۰/۶۱۰a	۰/۶۱۰a	۰/۳۰۴a	۰/۲۷۷a
سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز)	۴۸/۸۸a	۳/۴۹a	۴/۱۶b	۴/۷۰a	۱/۷۴a	۱/۵۸a
متوسط جوانه‌زنی روزانه (روز)	۳/۴۹a	۲/۴۰c	۵/۲۰a	۵/۶۰a	۲/۰۶d	۲/۰۰e
طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	۴/۷۰a	۰/۰۱۸abc	۰/۰۲۳bc	۰/۰۲۸۳a	۴/۳۶a	۱۲/۱۳b
وزن تر ساقه‌چه (میلی‌گرم)	۰/۰۱۶a	۰/۰۱۴b	۰/۰۱۴b	۰/۰۱۶a	۰/۰۱۶c	۰/۰۱۰e
وزن خشک ساقچه (میلی‌گرم)	۰/۰۰۸a	۰/۰۰۷b	۰/۰۰۷b	۰/۰۰۸a	۰/۰۰۷c	۰/۰۰۰۲e
ورن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم)	۰/۰۰۸a	۰/۰۰۷b	۰/۰۰۷b	۰/۰۰۸a	۰/۰۰۰۱e	۰/۰۰۰۱e
بنیه بذر	۴۹۸/۵۷a	۴۵۸/۵۸b	۴۰۰/۸۱c	۴۸/۴۴a	۰/۲۷۷a	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 ندازند.

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 میلی‌گرم در لیتر با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند (جدول ۲). بیشترین میزان 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 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 سمتی محلول سولفات مس ساختار تشریحی گیاه را تحت تأثیر خود قرار داده است (جدوال ۳-۸ و شکل‌های ۱-۲۵).

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، به‌طوری که 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 (۰/۵۸) 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 تأثیر غلظت سولفات مس قرار گرفته

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه ریشه شبدرک

صفات	منبع تغییرات	مجموع مریعات	df	میانگین مریعات	F	معنی داری
اپیدرم	بین گروهی	۱۵۹۲/۰۱۲	۴	۳۹۸/۰۰۳	۱۵۹۲۰/۱۲۰۰	*/****
	درون گروهی	۰/۰۳۸	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۱۵۹۲/۰۵۰	۱۹			
گزیلم	بین گروهی	۶۰۸۲/۰۴۰۸	۴	۱۵۲۰/۰۶۰۲	۶۰۸۲۴۰/۸۰۰	*/****
	درون گروهی	۰/۰۳۷	۱۵	۰/۰۰۲		
	کل	۶۰۸۲/۰۴۴۶	۱۹			
فلوئم	بین گروهی	۴۵۱۱۲/۰۶۱۲	۴	۱۱۲۷۸/۰۴۰۳	۴۵۱۱۳۶۱/۲۰۰	*/****
	درون گروهی	۰/۰۳۷	۱۵	۰/۰۰۲		
	کل	۴۵۱۱۲/۰۶۴۹	۱۹			
پارانشیم پوستی	بین گروهی	۴۵۰۸۳۹/۰۲۱۲	۴	۱۱۲۷۰/۰۹۸۰۳	۱۴۰۱/۸۲۰	*/****
	درون گروهی	۱۲۰۶/۰۳۸	۱۵	۸۰/۴۰۳		
	کل	۴۵۲۰۴۵/۰۲۵۰	۱۹			
پروتوگزیلم	بین گروهی	۴۲۵۲/۰۸۰۰	۴	۱۰۶۳/۰۲۰۰	۴۲۵۲۸۰/۰۰۰	*/****
	درون گروهی	۰/۰۳۸	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۴۲۵۲/۰۸۳۸	۱۹			
متاگزیلم	بین گروهی	۷۱۶۹/۰۱۲	۴	۱۷۹۹/۰۰۳	۶۷۴۶۲۶/۱۲۵	*/****
	درون گروهی	۰/۰۴۰	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۷۱۹۶/۰۰۵۲	۱۹			

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

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

غله (میلی گرم در کیلوگرم)	کوتیکول (μm)	اپیدرم (μm)	فلوئم (μm)	گزیلم (μm)	پارانشیم پوستی (μm)	پروتوگزیلم (μm)	متاگزیلم (μm)
شاهد	۹/۹۶۶a	۳۰/۰۳۲a	۲۰۰/۰۳۲a	۵۸۶/۰۳۲a	۶۰/۰۳۲a	۸۰/۰۳۲a	
۱	۱۰/۰۰a	۳۰/۰۳۲b	۲۰۰/۰۳۲b	۴۰۰/۰۳۲b	۴۰/۰۳۲b	۶۰/۰۳۲b	
۳	۱۰/۰۰a	۳۹/۹۹۶b	۱۱۰/۰۳۲b	۳۰۰/۰۳۲c	۳۰/۰۳۲c	۴۹/۹۹۶c	
۴	۱۰/۰۰a	۴۹/۹۹۶c	۱۰۰/۰۳۲b	۲۰۰/۰۳۲d	۲۵/۰۳۲d	۴۰/۰۳۲d	
۷	۱۰/۰۰a	۴۹/۹۹۶c	۱۰۰/۰۳۲c	۱۷۹/۹۶۵	۱۸۰/۰۳۲e	۵۸۶/۰۳۲a	

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.

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

ساختمان آناتومی ریشه شبدرک:
 نتایج حاصل از مطالعه برش های عرضی ریشه در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ نمایی های مختلف، نشان داد که سطوح مختلف مس تأثیر محسوسی بر ساختمان ریشه داشت (شکل های ۱-۱۰). گیاه با افزایش غله سولفات مس و برای مقابله با تنفس، ضخامت اپیدرم خود را افزایش داد (جدول ۴). با افزایش غله سولفات مس، ضخامت پارانشیم پوستی، آوند آبکش، آوند چوبی، متاگزیلم و پروتوگزیلم ریشه کاهش یافت. به طوری که

جدول ۵: آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه ساقه شبدرک

صفات	منبع تغیرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	معنی داری
کوتیکول	بین گروهی	۰/۰۰۸	۴	۰/۰۰۲	۳/۰۰	۰/۹۹۸۵
	درون گروهی	۰/۰۱	۱۵	۰/۰۰۱		
	کل	۰/۰۱۸	۱۹			
اپیدرم	بین گروهی	۱۲۸۱۶۰۳	۴	۳۲۰/۴۰۱	۶۴۰.۸۰/۱۵۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۷۵	۱۵	۰/۰۰۵		
	کل	۱۲۸۱/۶۷۸	۱۹			
پارانشیم پوستی	بین گروهی	۵۶۴۹۰۹/۲۱۲	۴	۱۴۰۷۲۷/۳۰۳	۲۴۶/۱۱۲	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۸۵۷۷/۰۳۸	۱۵			
	کل	۵۷۱۴۸۶/۲۴۹	۱۹			
فلوئم	بین گروهی	۱۵۵۱۳/۶۰۲	۴	۳۸۷۸/۴۰۰	۹۶۹۶۰۰/۱۲۵	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۶۰	۱۵	۰/۰۰۴		
	کل	۱۵۵۱۳/۶۶۲	۱۹			
گزیلم	بین گروهی	۲۸۸۰/۰۰۰	۴	۷۲۰/۰۰۰	۲۸۸۰۰۰/۰۰۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۳۷	۱۵	۰/۰۰۲		
	کل	۲۸۸۰/۰۳۸	۱۹			
پروتوگزیلم	بین گروهی	۱۷۰/۰۰۰	۴	۴۲/۵۰۰	۱۷۰۰۰/۰۰۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۳۷	۱۵	۰/۰۰۲		
	کل	۱۷۰/۰۳۸	۱۹			
متاگزیلم	بین گروهی	۲۵۰/۰۰۰	۴	۶۲/۵۰۰	۲۵۰۰۰/۰۰۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۳۸	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۲۵۰/۰۳۸	۱۹			

*: 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 شبدرک (*Melilotus officinalis* L.)

متاگزیلم (μm)	پروتوگزیلم (μm)	پارانشیم پوستی (μm)	گزیلم (μm)	فلوئم (μm)	اپیدرم (μm)	کوتیکول (μm)	غلظت (میلی گرم در کیلوگرم)
۲۲/۴۶۶a	۱۲/۴۶۶a	۷۰۰/۰۳۳a	۱۰۹/۹۶۶a	۹۹/۹۶۶a	۴۰/۰a	۹/۹۶a	شاهد
۱۹/۹۶۶b	۹/۹۶۶b	۵۸۶/۶۳۳b	۱۰۹/۹۳۳a	۸۹/۹۶۶b	۳۵/۰-b	۱۰/۰a	۱
۱۷/۴۶۶c	۷/۴۶۶c	۴۰۰/۰۳۳c	۶۹/۹۶۶b	۸۹/۹۶۶b	۲۹/۹۶۶c	۱۰/۰a	۳
۱۴/۹۶۶d	۴/۹۶۶d	۲۷۶/۶۳۳d	۵۹/۹۶۶c	۶۹/۹۶۶c	۲۰/۰d	۱۰/۰a	۴
۱۲/۴۶۶e	۴/۹۶۶d	۲۷۶/۶۳۳d	۳۹/۹۶۹d	۶۹/۹۶۶c	۱۹/۹۶۶d	۱۰/۰a	۷

حروف لاتین نشان‌دهنده نتایج مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد. میانگین ها، 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.

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

صفات	منبع تغیرات	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	Sig.
اپیدرم فوکانی	بین گروهی	۱۲۵۲/۹۱۳	۴	۳۱۲/۲۲۸	۶۸۲۹۱/۰۳۶	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۶۹	۱۵	۰/۰۰۵		
	کل	۱۲۵۲/۹۸۲	۱۹			
مزوفیل	بین گروهی	۱۳۵۳۳۱۲/۱۲۲	۴	۱۸۹۹۳/۰۰۳	۷۵۹۷۲۰۱/۲۰۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۳۰	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۱۳۵۳۳۱۲/۱۵۲	۱۹			
پهنهک برگ	بین گروهی	۷۵۹۷۲/۰۱۲	۴	۱۸۹۹۳/۰۰۳	۷۵۹۷۲۰۱/۲۰۰	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۳۸	۱۵	۰/۰۰۳		
	کل	۷۵۹۷۲/۰۵۰	۱۹			
اپیدرم تحتانی	بین گروهی	۶۹۳/۶۸۰	۴	۳۳۸۳۲۸/۲۸۱	۱۶۹۱۶۴۱۴۰/۲	۰/۰۰۰*
	درون گروهی	۰/۰۰۱	۱۵	۰/۰۰۲		
	کل	۶۹۳/۶۸۰	۱۹			

*: معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

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

غلهای (میلی گرم در کیلو گرم)	اپیدرم تحتانی (μm)	اپیدرم فوقانی (μm)	مزوفیل (μm)	پهنهک برگ (μm)
شاهد	۴۵/۰۳۲a	۴۹/۹۶۶c	۷۶۰/۰۳۲a	۸۳۹/۹۹۶e
۱	۴۸/۰۳۲b	۵۰/۰۳۳c	۷۳۰/۰۳۲b	۸۰۹/۹۶۶d
۳	۵۲/۰۳۳c	۵۹/۰۳۳c	۷۱۰/۰۳۳c	۸۰۰/۰۳۳c
۴	۵۵/۰۳۳d	۵۹/۹۶۶b	۶۳۰/۰۰e	۷۲۹/۹۶۶b
۷	۶۲/۰۳۳e	۶۹/۹۶۶a	۵۶۰/۰۳۲d	۶۷۰/۰۳۲a

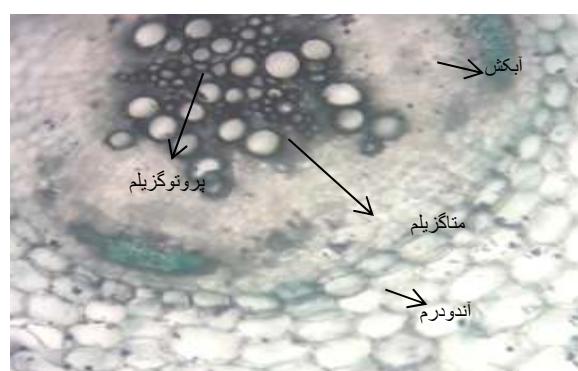
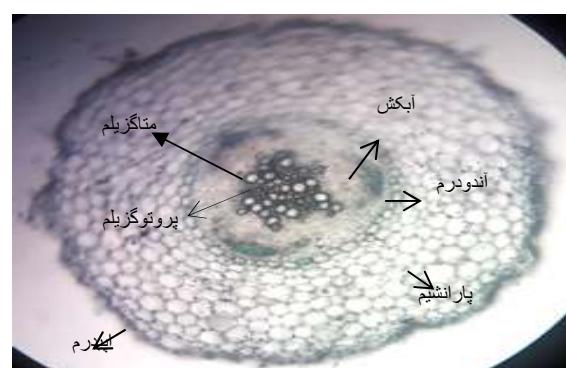
حروف لاتین نشان دهنده نتایج مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد. میانگین ها، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند.

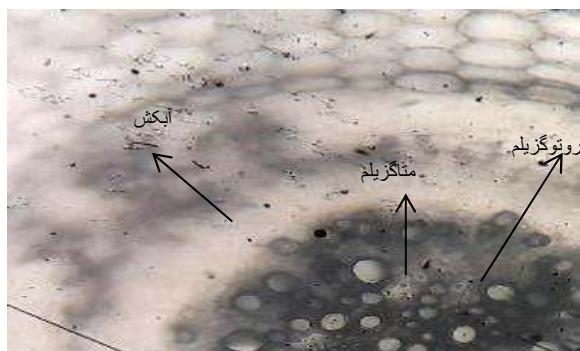
ساختمان آناتومی برگ شبدرک:

نتایج بدست آمده از مطالعه برش های عرضی برگ (شکل های ۲۱-۲۵) که در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ نمایی های 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. به طوری که، بیشترین مقدار در تیمار شاهد و ۱ میلی گرم در کیلو گرم 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 معنی دار است (جدول ۷ و ۸).

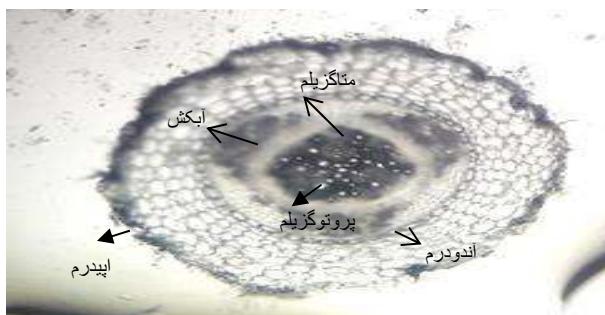
ساختمان آناتومی ساقه شبدرک:

نتایج به دست آمده از مطالعه برش های عرضی ساقه (شکل های ۱۱-۱۸) که در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از بزرگ نمایی های 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 تنفس کاهش یافت (جدول ۶). همچنین میانگین صفات مختلف مورد بررسی نشان داد که ضخامت اپیدرم و پارانشیم در شاهد و سطوح غلظت سولفات مس ۱ و ۳ میلی گرم در لیتر در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۵ و ۶). ضخامت آوند ابکش و چوب با افزایش غلظت سولفات مس کاهش یافت (جدول ۶).

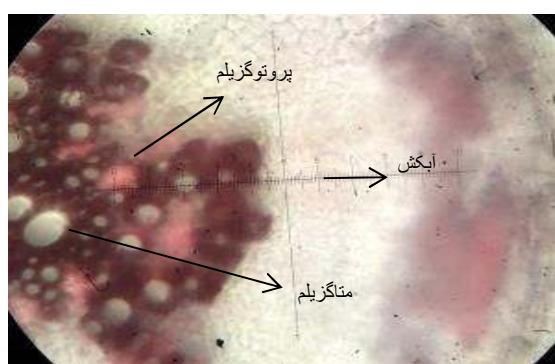
شکل ۲: آوندهای ریشه شاهد شبدرک ($\times 40$)شکل ۱: ریشه شاهد شبدرک ($\times 10$)



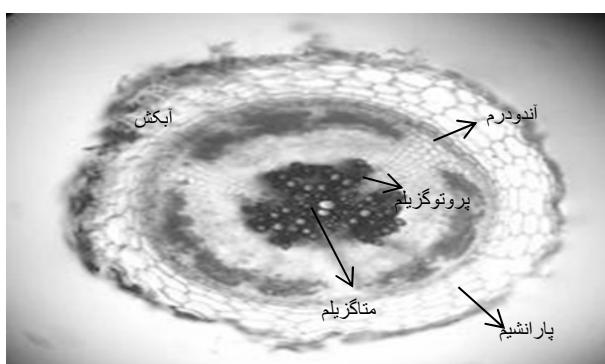
شکل ۴: آون های ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



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



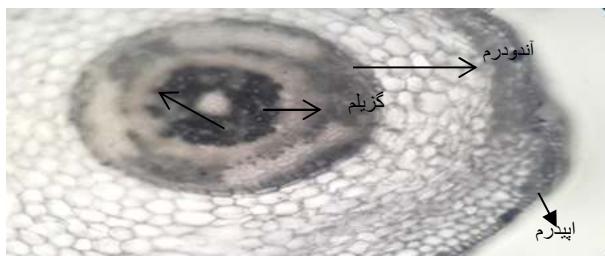
شکل ۶: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۳ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



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



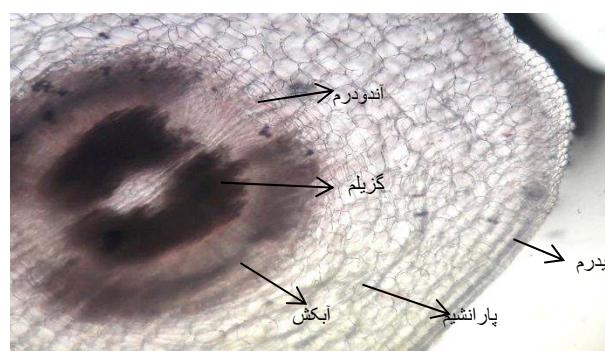
شکل ۸: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



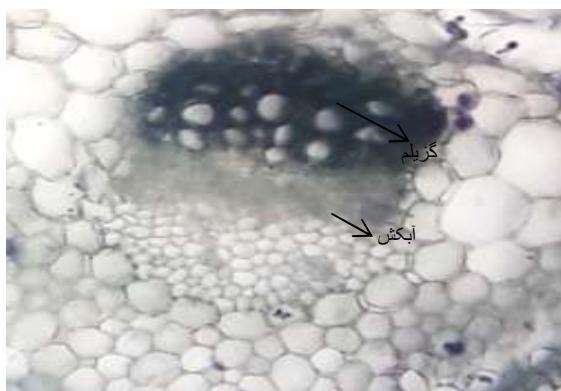
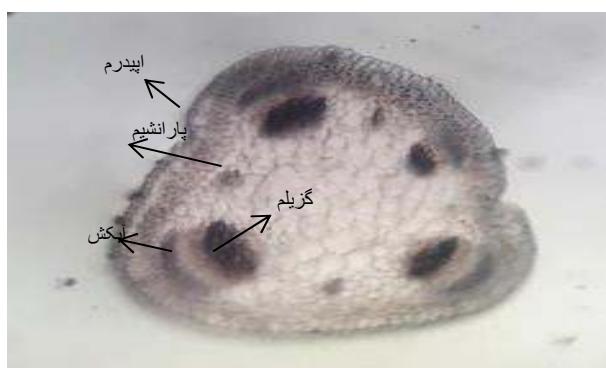
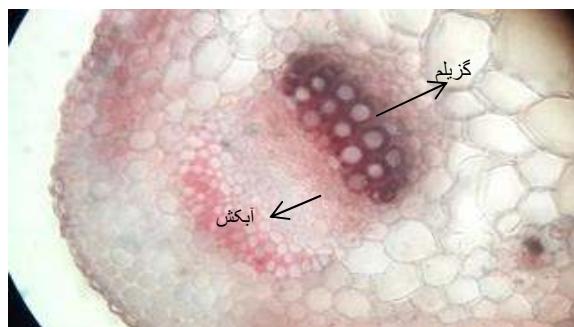
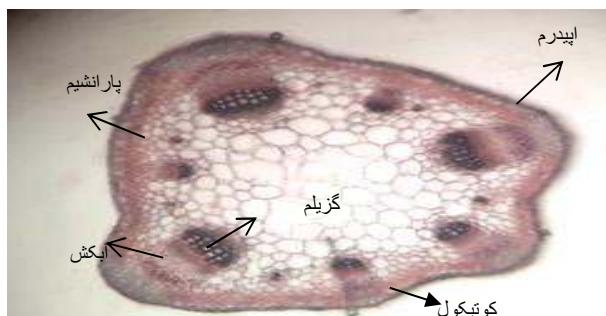
شکل ۷: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)

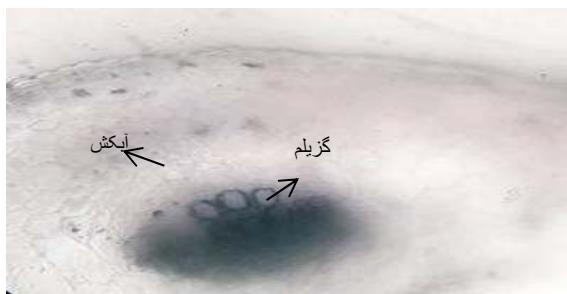


شکل ۱۰: آوندهای ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)

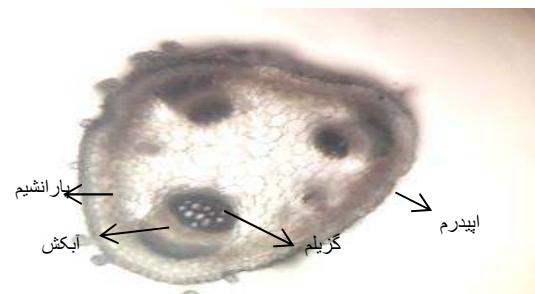


شکل ۹: ریشه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)

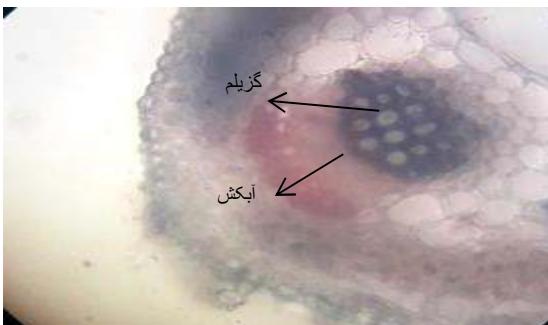
شکل ۱۲: آوندهای ساقه شاهد شبدرک ($\times 40$)شکل ۱۱: ساقه شاهد شبدرک ($\times 10$)شکل ۱۴: آوندهای ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)شکل ۱۳: ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)شکل ۱۶: آوندهای ساقه شبدرک با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)شکل ۱۵: ساقه شبدرک تیمار شده با غلظت ۴ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 10$)



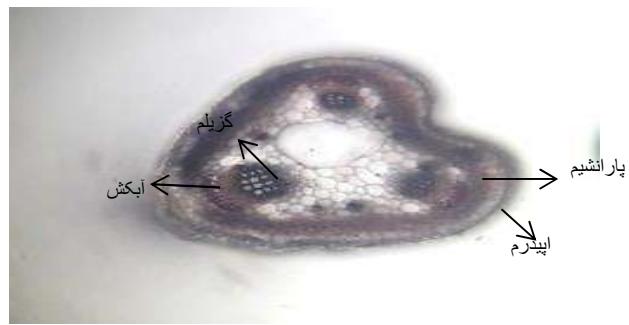
شکل ۱۸: آوندهای ساقه شبدرك تیمار شده با غلظت ۷ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



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



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



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



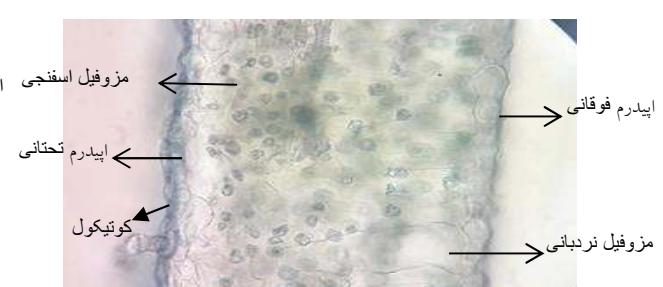
شکل ۲۲: برگ شبدرك تیمار شده با غلظت ۱ میلی گرم در کیلوگرم سولفات مس ($\times 40$)



شکل ۲۱: برگ شاهد شبدرك ($\times 40$)



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



شکل ۲۳: برگ شبدرك 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)

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 برجام انجام شد، طول اندام هوایی، زیست‌توده گیاهی و محتوای آب در اثر آلودگی مس کاهش پیدا کرد. به طوری که در غلظت بالاتر از 0.5 mg/L مولار ریشه و غلظت بالاتر از $1/2$ 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 دارد.

نتایج به دست 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 بنترگراس (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 دارد.

رونده 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، متابکریلم و پروتوگریلم 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

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 برجام 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 0.5 mg/L 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 12 mg/L میلی‌گرم بر لیتر مس از رشد ریشه ذرت جلوگیری نمود (۲۲). بر اساس مطالعه‌ای،

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 غلظت هایی بالاتر از ۳ میلی گرم در لیتر دارند. تیمارهایی با غلظت پایین تر از غلظت مزبور، از جوانه‌زنی 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 تاثیر 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 متاگزیلم 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 مطالعه‌ای 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.

سطح 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 یافتد که با نتایج دیگر پژوهشگران (۴، ۸، ۲۵ 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 *Trandescantia 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. Chaffai, R., A. Tekitek & E. El-Ferjani, 2005 Comparative Effects of copper and cadmium on growth and lipid content in maize sedlings (*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 1, Plant and environmental relates, Ferdoesi 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. Zaheed & M. Athar, 2005. Germination and seedling growth of corn (*Zea mays L.*) under varying levels of copper and zinc. *Int. J. Environ. Sci. Thechnol.*, 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. Gowayed & 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. Breedon & S.P. M.C. Grath, 2000. Zinc hyper accumulation and cellular distribution in *Arabidopsis halleri*. Plant Cell Environ., 23: 507–514.