علوم و تحقیقات بذر ایران
سال چهارم/ شماره اول/ ۱۳۹۶ (۴۸ - ۳۷)

DOI: 10.22124/jms.2017.2246

اثر تنش مس، نیکل و کبالت بر خصوصیات جوانه‌زنی غده اویارسلام ارغوانی در شرایط آزمایشگاه

شهین جهان نجاتی[۱*]، مهرانگیز جوکار[۲]، جواد طایی سمیرمی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۴

چکیده

به‌منظور بررسی میزان مقاومت گیاه اویارسلام به تنش فلزات سنگین مس، نیکل و کبالت در مرحله جوانه‌زنی، آزمایشی به‌صورت فاکتویل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه زراعت و باغبانی دانشگاه جیرفت انجام شد. فاکتور اول شامل سه فلز مس، نیکل، کبالت و فاکتور دوم شامل سطوح غلظت فلز (۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. نتایج نشان داد که صفات درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) تحت تاثیر فلزات سنگین و سطوح تنش و فقط درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر اثر متقابل آن‌ها قرار گرفتند. بررسی اثر سطوح تنش نشان داد تیمارهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، میزان سرعت جوانه‌زنی غده‌ها را نسبت به شاهد به‌ترتیب ۱۷/۸٪، ۲۶/۰۷٪، ۳۵/۷٪، ۴۶/۴٪ و ۵۷/۱٪ کاهش داد. تیمارهای مذکور درصد جوانه‌زنی غده‌ها را نیز به‌ترتیب ۹/۲٪، ۱۴/۹٪، ۲۴/۱٪، ۳۶/۷٪ و ۴۵/۹٪ نسبت به شاهد کاهش داد. کم‌ترین درصد (۷۰/۵) و سرعت جوانه‌زنی (۱/۷) در اثر تنش فلز نیکل اتفاق افتاد. نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد تغییرات سرعت جوانه‌زنی تحت تاثیر سطوح تنش مس، نیکل و کبالت تابع یک منحنی درجه دوم با ضرایب تباین بالای ۹۰٪ بود که در سطح ۰/۰۱ آماری معنی‌دار گردید. به‌طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد اویارسلام گیاهی مقاوم به تنش فلزات سنگین است که حتی تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز قابلیت جوانه‌زنی و رشد دارد، همچنین قابلیت تحمل اویارسلام به فلز سنگین مس نسبت به فلزات کبالت و نیکل بیش‌تر بود Ni <Co <Cu.

واژه‌های کلیدی: آستانه تحمل، اویارسلام، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، غده، فلزات سنگین

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
۲. اعضای هیئت علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران
* نویسنده مسئول: jahannejati1369@gmail.com

مقدمه

فلزات سنگین عناصری هستند که دارای چگالی بیش‌تر از $5g.cm^{-3}$ و از مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست به شمار می‌روند (Subhashini *et al*., 2013). این فلزات معمولاً در نتیجه فعالیت‌های صنعتی از قبیل استخراج معادن، تصفیه فلزات، آب فلزکاری، گازهای خروجی اگزوزها، تولیدات انرژی و سوخت، کاربرد کودها و سموم و بازیافت زباله‌های شهری وارد بوم نظام‌ها شده و در خاک تجمع می‌یابند، غلظت بیش از حد استاندارد تعیین‌شده در محیط زیست باعث ایجاد آلودگی ناشی از این عناصر می‌گردد که در نتیجه آن به موجودات زنده آسیب می‌رسد (Kabata-pendias, 2001). کنترل منابع آلودگی و یا حذف آلاینده می‌تواند از آلودگی بوم نظام‌ها جلوگیری نماید، یکی از راهکارهای کاهش آلودگی محیط زیست به این فلزات، تصفیه پساب‌های آلوده یا محیط‌های آلوده به روش گیاه پالایی است. گیاه‌پالائی[1] فناوری نوینی است که در آن از گیاهان برای حذف آلاینده‌های محیطی نظیر فلزات سنگین استفاده می‌شود (Pilon-Smits, 2005). از بین روش‌های متنوع پاک‌سازی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین روش گیاه‌پالایی نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی تصفیه‌ای خاک ارزان‌تر است، به انرژی کم‌تری نیازدارد، آلودگی‌های ثانویه کم‌تری دارد، خطرات آلوده‌شدن آب‌های زیرزمینی برای این روش مطرح نمی‌باشد و همچنین روشی پایدار، اکولوژیک و سازگار با محیط زیست می‌باشد (Joner *et al*., 2002). به‌منظور توسعه روش گیاه پالایی، شناسایی گیاهانی که دارای مقاومت زیاد به تنش فلزات سنگین و توانایی بالایی برای جذب فلزات و تولید زیست‌توده داشته باشند ضروری است (Taghizadeh *et al*., 2011). بنابراین اولین گام، شناسایی گیاهان مقاوم به تنش فلزات سنگین است در این راستا مطالعاتی انجام شده که بر اساس آن‌ها می‌توان مقاومت گیاه را در مراحل اولیه استقرار و جوانه‌زنی در آزمایشگاه تعیین کرد. دوستی و همکاران (Dousti *et al*., 2012) به ارزیابی میزان مقاومت گیاه سماق به سرب در مرحله جوانه‌زنی پرداختند. بذور سماق در غلظت صفر سرب (شاهد) دارای بالاترین درصد جوانه‌زنی بود و در حضور غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌مولار دارای کم‌ترین سرعت و درصد جوانه‌زنی بود و با افزایش غلظت سرب، سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور سماق به‌صورت معنی‌داری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر کاهش یافت. والریو و همکاران (Valerio *et al*., 2007) میزان سمیت فلزات آرسنیک، سرب، روی، منگنز و کبالت را برای گیاه کاهو در مرحله جوانه‌زنی ارزیابی نمودند. نتایج این آزمایش نشان داد که مهم‌ترین صفتی که تحت تاثیر سمیت این فلزات قرار می‌گیرند، سرعت جوانه‌زنی و نکروزه شدن ریشه‌ها می‌باشد. تورس (Torres, 2003) استفاده از بذر گیاهان به‌منظور ارزیابی شدت سمیت مواد آلاینده در محیط زیست به‌عنوان یک شاخص زیستی پیشنهاد نمودند. در این بررسی جوانه‌زنی به‌عنوان یک متغیر قابل اندازه‌گیری از طریق آزمون‌های استاندارد جوانه‌زنی روش مناسب برای ارزیابی شدت سمیت، آلاینده است (Vadillo *et al*., 2004). پرالت و همکاران (Peralt *et al*., 2000) اثر غلظت‌های مختلف برخی فلزات سنگین را روی جوانه‌زنی بذر یونجه بررسی نمودند، نتایج نشان داد شاخص‌های جوانه‌زنی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌دار تحت تاثیر سمیت کادمیوم و کروم در غلظت ۱۰ ppm قرار گرفت. محمود و همکاران (Mahmood *et al*., 2005) نیز شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه ذرت را تحت تنش سطوح فلزات مس و روی بررسی نمودند، جوانه‌زنی تحت تاثیر هیچکدام از تیمارها قرار نگرفت، درحالی‌که رشد اولیه با افزایش غلظت سولفات روی به شدت محدود شد.

اویارسلام ارغوانی (*Cyperus rotundus*) گیاهی است چندساله که توانایی قابل توجهی در حفظ بقای خود تحت شرایط نامساعد محیطی دارد. با سرعت زیادی رشد کرده و زیست‌توده زیادی تولید می‌کند، عمدتاً توسط غده تکثیر می‌شود، اما تکثیر از طریق بذر نیز امکان‌پذیر است (Michael *et al*., 2005). فراگ و همکاران (Farrag *et al*., 2012) در بررسی قابلیت و توان گیاه پالایی گونه‌ای دیگر از اویارسلام (*Cyperus articulatus* L.) به این نتیجه رسیدند که این گیاه توانایی زدودن فلزات سنگین مانند مس، کبالت، آهن، جیوه، منگنز، کادمیوم، نیکل، سرب و آرسنیک را دارد. در زمینه اثرات فلزات سنگین در مرحله جوانه‌زنی غده گیاه اویارسلام ارغوانی گزارش چندانی در دسترس نمی‌باشد. بنابراین این پژوهش به‌منظور ارزیابی میزان مقاومت گیاه اویارسلام به تنش فلزات مس، نیکل و کبالت در مرحله جوانه‌زنی اجرا گردید.

[1] Phytoremediation

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دی ماه سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه زراعت و باغبانی دانشگاه جیرفت اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل فلزات سنگین مس، کبالت و نیکل به‌عنوان فاکتور اول و ۶ سطح (۰،۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰،۸۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌عنوان فاکتور دوم بود.

غده‌های این گیاه از یک رویشگاه یکنواخت که به‌صورت یک کلون بود جمع‌آوری شدند. غده‌های هم‌اندازه انتخاب و در درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۵ سانتی‌متر کشت گردیدند. بعد از اعمال تیمارها، واحدهای آزمایشی در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت ۵۰ درصد و فتوپریود ۱۲:۱۲ (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار گرفتند.

شمارش غده‌های جوانه‌زده به‌صورت روزانه و در ساعت خاصی انجام می‌گرفت و معیار جوانه‌زنی غده‌ها طول محور جوانه بیش‌تر از ۲ میلی‌متر بود، شمارش جوانه‌زنی تا زمانی انجام شد که در هر واحد آزمایشی سه روز متوالی تغییری در تعداد غده‌های جوانه‌زده مشاهده نشد. پس از اتمام جوانه‌زنی، درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی بر اساس روابط ۱ تا ۳ محاسبه شدند (Dousti *et al*., 2012).

$$GP = \left(\frac{Ni}{N}\right) \times 100$$ رابطه (۱)

بر اساس این فرمول GP درصد جوانه‌زنی ، Ni تعداد غده‌های جوانه‌زده تا روز iام و N تعداد کل غده‌های کاشته‌شده می‌باشد.

$$GR = \Sigma Ni/Di$$ رابطه (۲)

بر اساس این فرمول GR سرعت جوانه‌زنی، Ni تعداد غده‌های جوانه‌زده در روزهای شمارش و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش می‌باشد.

$$MGT = \frac{A_1D_1+A_2D_2+\cdots+AnDn}{A_1+A_2+\cdots+An}$$ رابطه (۳)

بر اساس این فرمول MGT متوسط زمان جوانه‌زنی، A تعداد غده‌های جوانه‌زده در زمان D و n کل تعداد روزها تا آخرین روز شمارش می‌باشد.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS و مقایسه میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند-دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد در همان نرم-افزار صورت گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل، اثر فلزات سنگین مس، نیکل و کبالت و اثر غلظت‌های مختلف آن‌ها بر سرعت، درصد و متوسط زمان جوانه‌زنی معنی‌دار گردید ($p<0.01$). همچنین اثر متقابل فلزات سنگین و سطوح غلظت بر درصد جوانه‌زنی تاثیر معنی‌داری ($p<0.01$) داشت (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد که بیش-ترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۰/۷۱ روز) و کم‌ترین سرعت (۱/۷) و درصد جوانه‌زنی (۷۰/۵٪) متعلق به فلز سنگین نیکل می‌باشد. مس دارای بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۳) و درصد جوانه زنی (۸۲/۲٪) و کم‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی (۰/۴۶ روز) نسبت به کبالت و نیکل می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل به نظر می‌رسد، توانایی تحمل اویارسلام در مرحله جوانه‌زنی به فلز سنگین مس بیش‌تر از کبالت و نیکل است.

فراگ و همکاران (Farrg *et al*., 2012) قابلیت گیاه-پالایی اویارسلام گونه (*Cyperus articulates*) را ارزیابی نمودند و گزارش کردند که توانایی تحمل و تجمع فلز سنگین مس در این گیاه بیش‌تر از فلز نیکل است. بررسی اثر سطوح مختلف تنش فلزات سنگین نشان داد که میزان سرعت جوانه‌زنی غده‌ها در تیمارهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۱۷/۸٪، ۲۶/۰۷٪، ۳۵/۷٪، ۴۶/۴٪ و ۵۷/۱٪ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. همچنین اثر تیمارهای مذکور بر درصد جوانه‌زنی غده‌ها نسبت به شاهد به ترتیب ۹/۲٪، ۱۴/۹٪، ۲۴/۱٪، ۳۶/۷٪ و ۴۵/۹٪ کاهش نشان داد.

همچنین بررسی اثر سطوح غلظت فلزات سنگین بر شاخص‌های مورد مطالعه نشان داد در غلظت صفر (شاهد) بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۹۶/۶٪) و سرعت جوانه‌زنی (۲/۸) اتفاق افتاده است. درحالی‌که غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر دارای کم‌ترین درصد (۵۲/۲٪) و سرعت جوانه‌زنی (۱/۲) است، براساس این نتایج، بالابودن درصد و سرعت جوانه‌زنی غده‌های گیاه اویارسلام ارغوانی در غلظت شاهد به‌علت فقدان سمیت ناشی از افزایش یون‌های مس،

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف فلزات سنگین بر درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی غده‌های اویارسلام

Table 1. Analysis of variance the effect heavy metals and different concentrations on germination percentage, germination rate and mean germination time tubers of *Cyperus rotundus*

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares		
		متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
فلزات سنگین Heavy metals	2	0.29**	650**	1.9**
غلظت Concentration	5	0.38**	2515.5**	2.9**
فلزات سنگین* غلظت Heavy *Concentration metals	10	0.05 ns	232.2**	0.1 ns
اشتباه آزمایش Error	36	0.027	70.3	0.13
ضریب تغییرات Coefficient of variation	-	28.2	11.1	18.6

**: معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال یک درصد ns : غیرمعنی دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال یک درصد

ns and** Significance difference of averages at the probability level of one percent.

کبالت و نیکل است که با افزایش غلظت این فلزات، سرعت و درصد جوانه‌زنی غده‌های اویارسلام به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است. که این موضوع به علت کندشدن و یا توقف فرآیند جوانه‌زنی در حضور غلظت بالای یون‌های این عناصر می‌باشد. اثر متقابل فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف فقط بر شاخص درصد جوانه‌زنی معنی‌دار گردید ($P<0.01$).با توجه به این‌که از روش برش‌دهی برای تحلیل آماری استفاده شده است سطوح غلظت برای درصد جوانه‌زنی به‌صورت جداگانه مقایسه شده و در نمودار شماره ۱ ارائه گریده است.

نتایج حاصل از این نمودار نشان داد برای فلز نیکل، میزان کاهش درصد جوانه‌زنی در سطوح ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد به‌ترتیب ۶/۸٪، ۱۳/۷٪، ۲۴/۱٪، ۵۸/۶٪ و ۵۹/۴٪ بود. هچنین برای فلز مس و کبالت میزان کاهش درصد جوانه‌زنی غده‌ها در سطوح مذکور نسبت به شاهد به‌ترتیب ۶/۸٪ ، ۱۳/۷٪، ۱۷/۲٪، ۲۰/۶٪ ، ۳۱/۰۳٪ و ۱۳/۷٪، ۱۷/۲٪، ۳۱/۰۳٪، ۳۱/۰۳٪ ، ۴۸/۲٪ بود.

چون با استفاده از مقایسه میانگین نمی‌توان روند تغییرات درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی غده‌ها را برای هر یک از فلزات نشان دهیم از نمودار رگرسیون استفاده می‌کنیم. روند تغییرات درصد، متوسط زمان و سرعت جوانه‌زنی غده‌های اویارسلام تحت سطوح مختلف تنش فلزات سنگین مس، نیکل و کبالت به‌ترتیب در نمودارهای (۲، ۳ و ۴) ارایه شده است. پارامترها برای این مدل‌ها برآورد شده و در جدول‌های (۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱) ارایه شده است. روند تغییرات از تابع کوادراتیک یا درجه دوم پیروی می‌کند.

با توجه به نمودار روند تغییرات درصد جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات مس و کبالت، همراه با افزایش سطوح تنش روند کاهشی یکنواختی داشتند اما درصد جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلز نیکل، نسبت به کبالت و مس با شدت بیش‌تری کاهش یافته است. در سطح تنش ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر درصد جوانه‌زنی در تیمار فلز مس (۶۶/۶) به‌ترتیب بیش‌تر از کبالت (۵۰) و نیکل (۴۰) است.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون مدل برازش داده‌شده برای فلزات مس، نیکل و کبالت به‌ترتیب بیش از ۹۷، ۹۲ و ۹۵ درصد از تغییرات را توجیه نموده است.

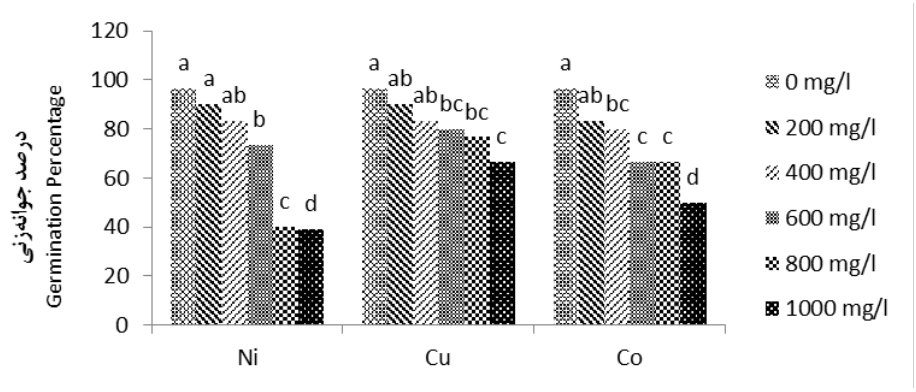
جدول ۲- مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر ساده فلزات سنگین و غلظت‌های مختلف بر درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی غده‌های اویارسلام

Table 2. Comparison the effect of different concentrations and heavy metals on germination percentage, germination rate and mean germination time tubers *Cyperus rotundus*

تیمارها Treatments	متوسط زمان جوانه زنی (روز) Mean Germination Time (day)	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی (تعداد در روز) Germination Rate (Number per day)
نیکل Nickel	0.71 [a]	70.5 [b]	1.7 [b]
مس Copper	0.46 [c]	82.2 [a]	2.3 [a]
کبالت Cobalt	0.59 [b]	73.8 [b]	1.8 [b]
0	0.3 [c]	96.6 [a]	2.8 [a]
200	0.4 [bc]	87.7 [b]	2.3 [b]
400	0.5 [bc]	82.2 [b]	2.07 [bc]
600	0.58 [b]	73.3 [c]	1.8 [cd]
800	0.7 [a]	61.1 [d]	1.5 [de]
1000	0.9 [a]	52. 2[e]	1.2 [e]

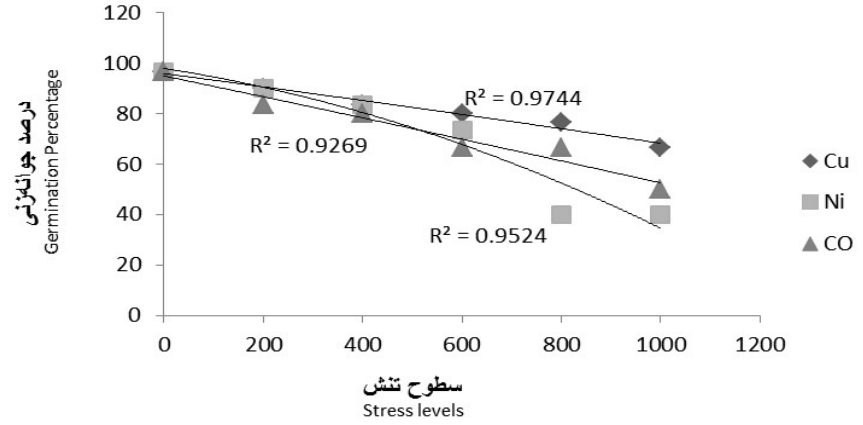
* اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری (بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد) تفاوت معنی‌داری ندارند

* Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 1% probability level accordimg to Duncan Multiple Range Test.



شکل ۱- اثرات متقابل فلزات سنگین × غلظت‌های مختلف آن‌ها بر درصد جوانه‌زنی غده‌های اویارسلام

Figure 1. Interactions of heavy metals×different concentrations on germination percentage tubers *Cyperus rotundus*



شکل ۲- روند تغییرات درصد جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات مس، کبالت و نیکل

Figure 2. Variations process germination percentage tubers under different levels of stress of Copper, Cobalt and Nickel

جدول ۳- پارامترهای مربوط به واکنش درصد جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز مس

Table 3. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination percentage to increased levels of stress, Copper

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	95.828	1.960	89.590	102.066
b1	-0.026	0.009	-0.055	0.003
b2	-1.509E-006	0.0001	-2.967E-005	2.665E-005

جدول ۴- پارامترهای مربوط به واکنش درصد جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز کبالت

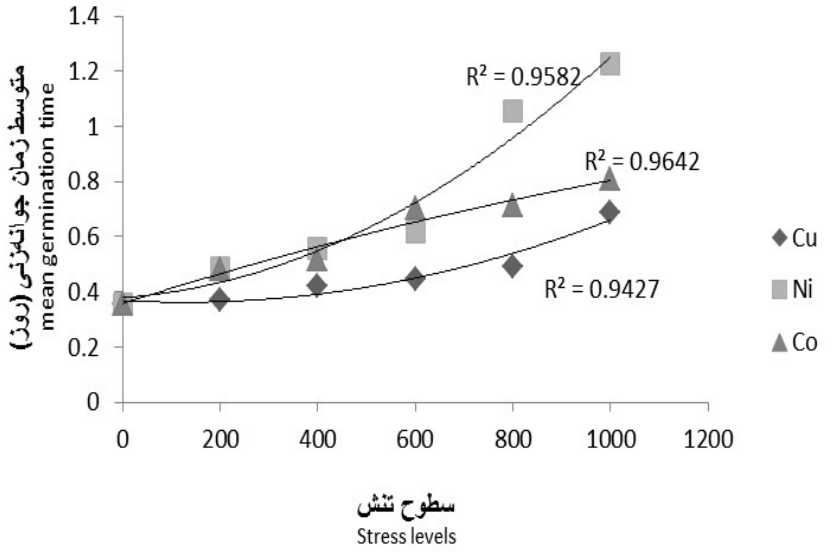
Table 4. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination percentage to increased levels of stress, Cobalt

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	94.876	4.150	81.668	108.084
b1	-0.041	0.020	-0.103	0.021
b2	-1.487E-006	0.0001	-6.111E-005	-5.814E-005

جدول ۵- پارامترهای مربوط به واکنش درصد جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز نیکل

Table 5. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination percentage to increased levels of stress, Nickel

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	97.852	7.872	72.801	122.904
b1	-0.031	0.037	-0.148	0.087
b2	-3.274E-005	0.0001	0.0001	-8.035E-005



شکل ۳- روند تغییرات متوسط زمان جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات مس، کبالت و نیکل

Figure 3. Variations process mean germination time tubers under different levels of stress of Copper, Cobalt and Nickel

با توجه به نمودار روند تغییرات متوسط زمان جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات مس، نیکل و کبالت، همراه با افزایش سطوح تنش، روند افزایشی داشت. با مقایسه متوسط زمان جوانه‌زنی غده‌ها در تیمارهای فلزات سنگین مس، نیکل و کبالت، بیش‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب متعلق به نیکل (۱/۲۲)، کبالت (۰/۸۰) و مس (۰/۶۸) بود. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون مدل برازش داده‌شده برای فلزات مس، نیکل و کبالت به‌ترتیب بیش از ۹۴، ۹۵ و ۹۶ درصد از تغییرات را توجیه نموده است.

جدول ۶- پارامترهای مربوط به واکنش متوسط زمان جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز مس
Table 6. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers mean germination time to increased levels of stress, Copper

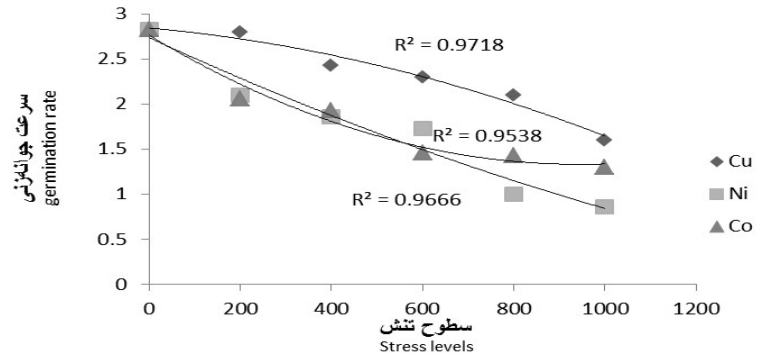
ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	0.369	0.034	0.260	0.477
b1	-9.911E-005	0.0001	-0.001	0.0001
b2	3.920E-007	0.0001	-9.562E-008	8.795E-007

جدول ۷- پارامترهای مربوط به واکنش متوسط زمان جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز کبالت
Table 7. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers mean germination time to increased levels of stress, Cobalt

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	0.358	0.038	0.238	0.478
b1	0.001	0.0001	-4.142E-006	0.001
b2	-1.147E-007	0.0001	-6.569E-007	-4.275E-007

جدول ۸- پارامترهای مربوط به واکنش متوسط زمان جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز نیکل
Table 8. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers mean germination time to increased levels of stress, Nickel

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	0.379	0.082	0.116	0.641
b1	0.0001	0.0001	-0.001	0.001
b2	7.491E-007	0.0001	-4.359E-007	1.934E-006



شکل ۴- روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات مس، کبالت و نیکل
Figure 4. Variations Process germination rate tubers under different levels of stress of Copper, Cobalt and Nickel

با توجه به نمودار روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی غده تحت تنش سطوح مختلف فلزات نیکل و کبالت، همراه با افزایش سطوح تنش، نسبت به فلز مس روند کاهشی بیش‌تری داشتند. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب متعلق به فلز مس (۱/۶)، کبالت (۱/۳) و نیکل (۰/۸) بود. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون مدل برازش داده‌شده برای فلزات مس، نیکل و کبالت به‌ترتیب بیش از ۹۷، ۹۵ و ۹۶ درصد از تغییرات را توجیه نموده است. با توجه به این‌که سرعت جوانه‌زنی نسبت به درصد و متوسط زمان جوانه‌زنی شاخص بهتری است می‌توان چنین نتیجه گرفت که قابلیت تحمل اویارسلام ارغوانی حتی در سطوح بالا به فلز سنگین مس به ترتیب بیش‌تر از کبالت و نیکل است.

جدول ۹- پارامترهای مربوط به واکنش سرعت جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز مس

Table 9. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination rate to increased levels of stress, Copper

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	2.842	0.091	2.553	3.132
b1	0.0001	0.001	-2.002	0.001
b2	-7.455E-007	0.0001	-2.050E-006	5.593E-007

جدول ۱۰- پارامترهای مربوط به واکنش سرعت جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز کبالت

Table 10. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination rate to increased levels of stress, Cobalt

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	2.764	0.123	2.374	3.154
b1	-0.003	0.001	-0.005	-0.001
b2	1.607E-006	0.0001	-1.533E-007	3.368E-006

جدول ۱۱- پارامترهای مربوط به واکنش سرعت جوانه‌زنی غده اویارسلام به افزایش سطح تنش فلز نیکل

Table 11. The reaction parameters related to *Cyperus rotundus* tubers germination rate to increased levels of stress, Nickel

ضرایب Parameter	برآورد Estimate	اشتباه معیار Std. Error	حد اطمینان پایین Lower Bound	حد اطمینان بالا Upper Bound
b0	2.738	0.183	2.155	3.320
b1	-0.002	0.001	-0.005	0.0001
b2	4.420E-007	0.0001	-2.190E-006	3.073E-006

نتیجه این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت یون‌های این عناصر آثار سمیت یون‌ها روی فرآیند جوانه‌زنی نمایان می‌شود، کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های بالاتر نشان دهنده اثر منفی غلظت‌های بالای عناصر روی سیستم‌های آنزیمی دخیل در فرآیند جوانه‌زنی می‌باشد. دوستی و همکاران (Dusti *et al*., 2012) در بررسی ارزیابی میزان مقاومت گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.) به سرب در مراحل جوانه‌زنی نشان دادند که غلظت‌های بالای سرب باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی گیاه سماق شد. که با نتایج این آزمایش همسو می‌باشد. از بین عناصر به ترتیب مس، کبالت و نیکل بیش‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی را داشته است که با توجه به نتایج حاصل به نظر می‌رسد که گیاه اویارسلام ارغوانی تحمل و مقاومت بیش‌تری به مس> کبالت> نیکل دارد. لطیف و همکاران (Latiff *et al*., 2012) در بررسی گیاه‌پالایی فلزات سنگین توسط گونه‌ی گیاهی اویارسلام (*Cyperus kyllingia-rasiga*) به این نتیجه رسیدند که توانایی جذب و مقاومت این گونه به فلز مس بیش‌تر از نیکل است که با نتایج ما در این تحقیق مطابقت دارد. سمیت نیکل به این دلیل است که این فلز

باعث کاهش فتوسنتز، از بین رفتن فشار تورژسانس و کاهش مقاومت به تنش آبی (Bishnoi *et al*., 1993)، القای تنش اکسیداتیو، اثر مخرب روی غشاها و اختلال در عمل آنزیم‌ها (Moya *et al*., 1993) می‌شود. مس عنصری ریزمغذی و ضروری در گیاهان است که جزو جدایی ناپذیر آنزیم‌های متعدد انتقال الکترون بوده و در تسریع واکنش‌های ردوکس درون میتوکندری و کلروپلاست شرکت می‌کند (Geatke and Chow, 2003) با این وجود مس و کبالت در غلظت‌های بالاتر از حد معمول باعث سمیت می‌گردند. سمیت فلزات سنگین عمدتا به این دلیل است که این فلزات بسیاری از جنبه‌های رفتار متابولیسمی یون کلسیم را تقلید می‌کنند و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی فعال در مسیرهای متابولیکی مهم جلوگیری به‌عمل می‌آورند (Parsa Doust *et al*., 2007). کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف همگام با افزایش غلظت عناصر در محیط اطراف گیاهان گزارش شده است (Lin *et al*., 2009).گوپیرا و گوزدز (Kopyra and Gwzdz, 2003) نشان دادند که غلظت‌های بالای سرب موجب کاهش جوانه‌زنی در گونه *Lupines luteus* گردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده از تحقیق (Wierzbicka and Obidziska, 1998) وجود فلزات سنگین در محیط رشد گیاه جوانه‌زنی بذر را به‌واسطه کاهش جذب آب توسط دانه کاهش نداد، چرا که پوشش دانه در مرحله اول جذب آب، زمانی که جذب آب تقریبا شدید است نسبت به فلزات سنگین نفوذناپذیر بوده ولی در مراحل پایانی جذب آب توسط دانه وقتی که جذب آب کاهش می‌یابد، پوشش دانه به فلزات سنگین نفوذپذیرتر می‌شود و فلزی را که در مرحله پایانی جذب آب توسط دانه به داخل جنین نفوذ می‌کند، جوانه‌زنی را به تاخیر می‌اندازد.

به‌طورکلی بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، گیاه اویارسلام (*Cyperus rotundus*) گیاهی بسیار مقاوم به تنش فلزات سنگین است به‌طوری‌که در غلظت‌های ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، غده‌ها هنوز قابلیت رشد و جوانه‌زنی خود را حفظ کردند که این قابلیت در بسیاری از گیاهان وجود ندارد. همچنین بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی نشان داد هر سه شاخص (درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی) تحت تاثیر سطوح تنش و نوع فلزات قرار گرفتند. اما بر اساس تجزیه رگرسیون سرعت جوانه‌زنی، روند تغییرات و تفاوت عکس‌العمل گیاه اویارسلام ارغوانی به فلزات را به‌صورت واضح‌تر و مشخص‌تر نشان داد، قابلیت تحمل اویارسلام به فلز سنگین مس به ترتیب نسبت به فلزات کبالت و نیکل بیش‌تر بود Ni <Co <Cu.

منابع

Bishnoi, N.R., Sheroran, I.S. and Randhir, S. 1993. Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of different insertion level. Photosynthetica, 28: 473-479. **(Journal)**

Dousti, B., Derikvand, R. and Amiri, H. 2012. The evaluation of plant resistance metal (*Rhus coriaria* L.) to lead in the germination and seedling at two different sites. Journal of Plant Science, 11: 67-83. (In Persian)**(Journal)**

Farrag, F., Hussein, F. and Fawzy, M. 2012. Phytoremediation potentiality of *Cyperus articulatus* L. Journal of Life Science, 9: 4032-4040. **(Journal)**

Gaetke, L.M. and Chow, C.K. 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. Toxicology, 189: 147-163. **(Journal)**

Joner, E.J., Corgie, S.C., Amellal, N. and Leyval, C. 2002. Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry, 34(6): 859-864. **(Journal)**

Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York Washington, D.C., 403 p. **(Book)**

Kopyra, M. and Gwzdz, E.A. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. Plant Physiology and Biochemistry, 41: 1011-1017. **(Journal)**

Latiff, A., Aziz, A., Abd Karim, A.T., Ahmad, A.S., Ridzuan, M.B. and Yung-Tse, H. 2012. Phytoremediation of metals in industrial sludge by *Cyperus kyllingia-rasiga*, *Asystassia intrusa* and

Scindapsus pictus Var Argyaeus, Plant Species. Icon-International Journal of Constitutional Law, 4: 1-8. **(Journal)**

Lin, C.J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D. and Wang, D. 2009. Soil amendment application frequency contributes to phytoextraction of lead by sunflower at different nutrient levels. Environmental and Experimental Botany, 65: 410-416. **(Journal)**

Mahmood, Q., Zheng, P.M., Siddigi, M.R., Islam, E., Azin, M.R. and Hayat, Y. 2005. Anatomical studies on water hyacinth *Euchhomia crassipes* (Martl Solms) under the influence of texiile waste water. Journal of Zhejian University, 68(10): 991-996. **(Journal)**

Michael, W.E., Barry J.B., Daniel, L.C., Joan, A.D. and Donn, G.S. 2005. Purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) control with glyphosate in soybean and cotton. Weed Technology, 19: 947–953. **(Journal)**

Moya, J.L., Ros, R. and Picazo, I. 1993. Influence of Cadmium and Nickel on growth, net photosynthesis and carboxylate distribution in rice plants. Photosynthesis Research, 36: 75-80. **(Journal)**

Parsa Doust, F., Bahreininejad, B., Safari Sanjani, A. and Cabole, M.M. 2007. Phytoremediation of Pb in soils contaminated by native rangeland plants and Sorkh area. Journal of Research and Development, 14: 54-63. (In Persian)**(Journal)**

Peralta, J.R., Gardea-Torresdey, J.L., Tiemann, K.J., Gomez, E., Arteaga, S. and Parsons, J.S. 2000. Study of the effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) grown in solid media. Conference on Hazardous Waste Research,135-140. **(Conference)**

Pilon-Smits, E. 2005. Perspectives in biochemical and genetic regulation of photosynthesis. Phytoremediation, 56: 15-39. **(Journal)**

Subhashini, V. and Swamy, A.S. 2013. Uptake of heavy metals from contaminated soils by *Cyperus rotundus* L. American-International Journal of Research in Science, Technology, Engineering and Mathematics, 3: 338-341. **(Journal)**

Taghizadeh, M., Kafi, M., Fattahi Moghaddam, M.R. and Savaghebi, Gh.R. 2011. The effect of different concentrations of lead on turfgrass seed germination and assess its absorption potential for phytoremediation. Journal of Horticultural Science, 14: 277-289. (In Persian)**(Journal)**

Torres, R.M.T. 2003. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. Agronomia Colombiana, 41: 2–3. **(Journal)**

Vadillo, G., Suni, M. and Cano, A. 2004. Viability and germination of seeds of *Puya raimondii* Harms (Bromeiaceae). Science of the Total Environment, 1: 71–80. **(Journal)**

Valerio, M.S., García, J.F. and Peinado, F.M. 2007. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). Science of the Total Environment, 378: 63-66. **(Journal)**

Wierzbicka, M. and Obidziska, J. 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. Plant Science, 137: 155-171. **(Journal)**

Effect of Copper, Nickel and Cobalt stress on tuber germination traits of C*yperus rotundus* under *in vitro* conditions

Shahin Jahan Nejati*[1], Mehr Angiz Jokar[2], Javad Taei Samirmi[2]

Received: October 20, 2015 Accepted: November 25, 2015

Abstract

To evaluate *Cyperus rotundus* resistance to heavy metals stress, copper, nickel, and cobalt, at the germination stage, this experiment was conducted in factorial based on a completely randomized design with three replications in Agronomy and Horticulture laboratory of Jiroft University. The first factor consisted of three metal copper, nickel, cobalt and the second factor levels consisted of metal concentrations (0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm), respectively. The results showed that germination percentage, rate and mean germination time were solely and significantly ($p < 0.01$) affected by both heavy metals and their concentrations and only, germination percentage was affected by the interaction of the treatments. The results showed that concentration treatments of 200, 400, 600, 800 and 1000 ppm, decreased tubers germination rate by 17.8%, 26.07%, 35.7%, 46.4%, and 57.1%, respectively. The same treatments decreased tubers germination percentage by 9.2%, 14.9%, 24.1%, 36.7% and 45.9% compared to the control. The lowest germination percentage (70.5) and rate (1.7) happened in nickel stress. The Regression analysis showed that germination rate changes affect the stress levels of copper, nickel and cobalt fit on quadratic function with R- square (R^2) above 90%, which was statistically significant at 0.01. The results of this experiment showed that *Cyperus rotundus* is tolerant to heavy metals stress and is capable to germinate and growth at concentrations up to 1000 mg/L. It was also fined that tolerance capability of *Cyperus rotundus* to copper heavy metal was higher than cobalt and nickel i.e. Cu >Co >Ni.

Keywords: ***Cyperus rotundus*; Germination percentage; Germination rate; Heavy metals; Tolerance; Tube**

How to cite this article
Jahan Nejati, S., Jokar, M. and Taei Samirmi, J. 2017. Effect of Copper, Nickel and Cobalt stress on tuber germination traits of C*yperus rotundus* under *in vitro* conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research, 4(1): 37-47. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2017.2246

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1- MSc student of Agronomy, College of Agriculture, Jiroft University, Jiroft, Iran
2- Faculty members, College of Agriculture, Jiroft University, Jiroft, Iran
*Corresponding author's Email: jahannejati1369@gmail.com