بررسی ویژگی‌های رشدی و اسانس گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) با کاربرد مس و روی

حمایت عسگری لجایر[1]، بابک متشرع زاده[2*]، غلامرضا ثواقبی[3]، جواد هادیان[4]

تاریخ دریافت: 93/4/30 تاریخ پذیرش: 94/9/3

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران و دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تبریز

2-دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

3- استاد فقید گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

4- استادیار پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران

* مسئول مکاتبه Emai: moteshare@ut.ac.ir

چکیده

مس و روی از عناصر کم‌مصرف ضروری بوده و جزء فلزات سنگین طبقه‌بندی می‌شوند، بنابراین کمبود و بیش‌بود آن‌ها در خاک، موجب بازدارندگی رشد گیاهان می‌شود. هدف از این تحقیق، بررسی اثر غلظت‌های متفاوت مس و روی بر برخی از صفات مورفولوژیک، میزان اسانس و هم‌چنین تعیین سرنوشت این عناصر در فرآیند اسانس‌گیری است. آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل شامل مصرف خاکی مس (صفر، پنج و 25 میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت سولفات مس) و روی (صفر، 10 و 50 میلی‌گرم برکیلوگرم خاک به صورت سولفات روی) و برهمکنش آنها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه طراحی و اجرا شد. نتایج نشان داد که برهمکنش مس و روی بر وزن‌تر ریشه و کلروفیل ($p\leq0/05$) وزن خشک ریشه، غلظت مس و روی اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر ($p\leq0/01$) تاثیر معنی‌داری داشت. با مصرف مس و روی در خاک غلظت آن‌ها در اندام هوایی افزایش یافت. برهمکنش منفی بین مس و روی در سطوح بالاتر اتفاق افتاده، لذا کاربرد هم زمان آنها باید با احتیاط صورت گیرد. غلظت مس و روی در تفاله و آب تقطیر تفاوتی با غلظت این عناصر در گیاه نداشت. باقی ماندن مس و روی در تفاله و آب تقطیر، حاکی از عدم انتقال عناصر به داخل اسانس بوده و کشت این گیاه در خاک‌های آلوده به مس و روی جهت تولید اسانس امکان‌پذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، روی، عناصر کم مصرف ، مرزه

Archive of SID

www.SID.ir

Assessment of Growth Characteristics and Essential oil of Savory *(Satureja hortensis* L.) With Application of Copper and Zinc

Hemayat Asgari [1], Babak Motesharezadeh[2]*, Gholam Reza Sacaghebi[3], Javad Hadian[4]

Received: July 21, 2014 Accepted: November 24, 2015

1-MSc. Graduate Student,University of Tehran and PhD. Student, Dept. of Soil Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- Assist. Prof., of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
3- Prof., Dept. of Soil Science,College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
4-Assist. Prof., Dept. of Agriculture, Medicinal Plants and Drug Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran.
*Corresponding Author: E- mail: moteshare@ut.ac.ir

Abstract

Copper (Cu) and Zinc (Zn) are essential micronutrients, that higher values are classified as heavy metals. So deficiency and toxicity of them causes growth inhibition in most plant. The aim of this study was to investigate the effect of different concentrations of Cu and Zn on morphological traits, essential oil content and the determination of these elements in during the process of steam distillation. This experiment was conducted as factorial based on complete randomized design with three replications in greenhouse conditions. The treatments consisted of three levels of Copper (0, 5 and 25 $mg.kg^{-1}$ $CuSO_4$) and zinc (0, 10 and 50 $mg.kg^{-1}$ $ZnSO_4$) and their combination. Results showed that interaction of Cu and Zn on the fresh weight of root and chlorophyll ($p\leq 0.05$), dry weight of roots, concentration of Cu and Zn on the shoots, residual distillation water and material ($p\leq 0.01$). With increasing Cu and Zn in soil, concentrations of them increased in shoots. Concentration of Cu and Zn in the sum of residual distillation water and material were similar the concentration of metals in shoots plant before distillation. Negative interaction between Cu and Zn occurred at higher application, therefore should consider combining these two elements not done at high levels. Retention of cu and Zn in the sum of residual distillation material and water, asset cannot transmit the elements into essential oil and cultivation of these medicinal plants in contaminated soils with Cu and Zn.

Keywords: Copper, Essential Oil, Micronutrients, Savory

مقدمه

استفاده روز افزون از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (آقا علیخانی و همکاران 1392). یکی از گیاهان دارویی که به طور گسترده و به اشکال مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد.

مرزه (*Satureja hortensis* L.) متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) بوده و به عنوان سبزی، ادویه و گیاه دارویی کشت می‌شود (هادیان 1388). مرزه گیاهی

Archive of SID
www.SID.ir

علفی، یک ساله، دارای ساقه چهارگوش، مستقیم و ارتفاع 60-30 سانتی‌متر است و دارای دوره رویشی کوتاه بوده (80-75 روز از جوانه زنی بذر تا گلدهی کامل) ومعمولا اوایل بهار از طریق بذر کشت می‌شود (رشینگر 1982). برگ‌ها و سرشاخه‌های گل‌دار مرزه، در طب سنتی با اثر شناخته شده ضد نفخ، ضد دل درد، ضد کرم، مقوی معده، محرک و خلط آور مورد استفاده بوده (زرگری 1997) و اسانس آن به طور گسترده به عنوان آنتی‌اکسیدان و عوامل ضد میکروبی در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی مصرف می‌شود (هادیان و همکاران 2010). اسانس‌ها جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما تولید آن‌ها به طور آشکاری تحت تاثیر عوامل محیطی قرار دارد (نقدی بادی و همکاران 1391). از مهم‌ترین عوامل محیطی که تاثیر زیادی بر رشد گیاهان دارویی و کمیت و کیفیت مواد موثره آنها دارد، می‌توان به شرایط رشدی، اقلیم، عناصر غذایی و فلزات سنگین اشاره نمود (استریت 2012).

مس و روی از عناصر غذایی ضروری بوده و نقش ساختاری و عملکردی فراوانی در فرآیندهای متابولیکی گیاهان دارند و کمبود و بیش‌بود آن‌ها در خاک موجب اختلالات متابولیکی و بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود (زارع ده آبادی و همکاران 1389). مدیریت صحیح تغذیه عناصر کم‌مصرف به عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورها در کشت موفق گیاهان دارویی بوده و می‌تواند بر شاخص‌های کمی و کیفی عملکرد تاثیر بگذارد (پریتی پانده و همکاران 2007 و میسرا و همکاران 2006). بررسی زارع ده آبادی و همکاران (1387) برای برآورد غلظت بهینه روی در نعناع و عکس‌العمل این گیاه در غلظت‌های بالای روی نشان داد، سطح برگ، ارتفاع گیاه و میزان کلروفیل در غلظت‌های پنج و 10 میکرومولار روی افزایش ولی مقادیر این شاخص‌ها در غلظت 40 میکرومولار کاهش یافت. مس به عنوان عنصر ضروری در گیاهان، در تسریع واکنش‌های ردوکس درون میتوکندری و کلروپلاست شرکت دارد و غلظت‌های بالای همین عنصر باعث سمیت بافت‌های گیاهی و کاهش جذب سایر عناصر غذایی شده و سنتز کلروفیل و واکنش‌های فتوسنتز کند و در نهایت رشد گیاهان کاهش می‌یابد (گریتکه و چو 2003). خان و همکاران (2002) در بررسی اثر سطوح صفر، پنج، 10 و 15 کیلوگرم بر هکتار روی را بر مقدار روی قابل استخراج در خاک و ترکیبات شیمیایی برنج گزارش کردند که غلظت روی در خاک، ریشه، برگ، کاه و کلش و دانه با مصرف روی افزایش می‌یابد.

گزارش‌های مختلفی مبنی بر تولید اسانس عاری از فلزات سنگین در گیاهان دارویی کشت شده در خاک‌های آلوده وجود دارد (حسین و همکاران 2006 و بگدات و عید 2007). ولی مستندات کافی علمی در زمینه عدم انتقال فلزات به داخل اسانس موجود نیست. لذا با توجه به افزایش سطح زیر کشت گیاهان دارویی در راستای تامین نیاز روز افزون دنیا و کمبود مستندات علمی کافی در زمینه تاثیر عناصر کم‌مصرف (مس و روی) و دیگر فلزات سنگین بر گیاه دارویی مرزه، این تحقیق در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات مس وروی بر ویژگی های رشدی و اسانس گیاه مرزه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در بهار سال 1391 در گلخانه گروه مهندسی علوم خاک دانشگاه تهران انجام شد. با توجه به هدف آزمایش، خاک مورد نظر می‌بایست از نظر مس و روی در حد پایینی باشد، لذا از عمق 30-0 سانتی‌متری مناطق مختلف نمونه‌های خاک جمع‌آوری و پس از تجزیه آنها خاک مورد نظر انتخاب و برای انجام آزمایش به گلخانه آورده شد. پس از هوا خشک کردن و عبور از الک 2 میلی‌متری، بعضی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن

Archive of SID

www.SID.ir

از جمله بافت خاک به روش هیدرومتری (بویوکوس 1962)، رطوبت ظرفیت مزرعه با صفحه فشاری (پیج 1982)، pH وEC درعصاره اشباع (هالوشاک 2006)، CEC خاک به روش باور (پیج 1982)، درصد کربن آلی به روش والکلی بلک (والکلی بلک 1934)، درصد آهک به روش حجم سنجی (گوپتا 1999)، نیتروژن کل خاک به روش هضم کجلدال (بریمنر و مولوانی 1982)، فسفر قابل استخراج با بیکربنات سدیم 0/5 مولار به روش اولسن (اسپارکس 1996)، پتاسیم قابل جذب به روش استخراج با استات آمونیوم نرمال (اسپارکس 1996) و مقادیر روی، مس، آهن و منگنز به روش استخراج با DTPA (اسپارکس 1996) تعیین گردید (جدول1). برای کشت گلخانه‌ای، خاک از الک 4 میلی‌متری عبور و از گلدان‌های پلاستیکی 4 کیلوگرمی (گلدان‌ها از جنس پلی‌اتیلن و وزن خالی هر گلدان 10±280 گرم با قطر 15/5 و ارتفاع 18 سانتی‌متر) برای کشت استفاده گردید. حد بحرانی مس و روی قابل عصاره‌گیری با DTPA در خاک‌های آهکی حدود یک میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک (ملکوتی و همکاران 1387) و حداکثر مقادیر مجاز مس و روی کل، در خاک‌های کشاورزی به ترتیب 100 و 300 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک می‌باشد (کاباتا- پندیاس 2001). در این پژوهش با توجه به سبک بودن بافت خاک، تیمارها طوری انتخاب گردید که مقدار قابل جذب این فلزات پس از دوره انکوباسیون در محدوده ماکزیمم مقدار مجاز این فلزات قرار گیرد و تنش اندکی به گیاهان وارد شود. تیمارهای آزمایش شامل تیمار شاهد یا (صفر)، تیمار پنج میلی‌گرم و 25 میلی‌گرم مس در کیلوگرم خاک) که سولفات مس $CuSO_4.5H_2O$و سه سطح روی از منبع سولفات روی $ZnSO_4.2H_20$ شامل تیمارهای شاهد یا (صفر)، 10 میلی‌گرم و 50 میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک و برهمکنش آنها بودند. برای اعمال تیمارها، عناصر مس و روی به صورت نمک‌های محلول در مقدار مشخصی آب مقطر حل شده و به طور یکنواخت و به صورت لایه لایه به سطح خاک هر گلدان اسپری شد تا مخلوط یکدست و یکنواخت حاصل شود و در هر مرحله خاک هر گلدان به صورت جداگانه مخلوط و یکنواخت گردید. پس از اعمال تیمارهای مس و روی در گلدان و رساندن رطوبت آن به حد 70 تا 80 درصد ظرفیت زراعی، به منظور حصول تعادل عناصر مس و روی با خاک گلدان‌ها، به مدت دو ماه در دمای اتاق انکوباسیون گردید. در طول دوره انکوباسیون، آبیاری و برهم زدن خاک هر گلدان پیوسته انجام گردید تا فرآیند تعادل عناصر با خاک بهتر صورت گیرد (تالوکدر و همکاران 2011). برای جلوگیری از بروز علائم کمبود سایر عناصر در گیاه و بر اساس نتایج آزمون خاک عناصر پتاسیم به میزان70 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم، فسفر به میزان چهار میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سوپرفسفات تریپل قبل از کشت اضافه گردید. همچنین عنصر نیتروژن به صورت تقسیط در چهار نوبت و هر نوبت 60 میلی‌گرم نیتروژن از منبع اوره همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه گردید. بذر مرزه پس از تهیه از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، در داخل سینی نشاء کشت شدند و در مرحله سه برگی گیاهان یکنواخت انتخاب شدند و به سطح برگ توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (CI-202Leaf Area meter, model:) با آب مقطر شستشو داده شد و همراه ریشه‌ها هوا خشک گردید. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در پاکت کاغذی، در آون در دمای 70 درجه سلسیوس تا ثابت شدن وزن آنها خشک گردیده و پس از توزین جهت تجزیه شیمیایی پودر شدند. به منظور اندازه‌گیری غلظت عناصر مس و روی در اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر از روش اکسیداسیون خشک استفاده گردید (زلجازکوف و همکاران 2006).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1- نتایج تجزیه های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه ای قبل از اضافه کردن مس و روی

ویژگی خاک	مقدار	ویژگی خاک	مقدار
رس (%)	17/46	Mg^{+2} ($meq.l^{-1}$)	2/6
سیلت (%)	18/00	CEC ($cmolc.kg^{-1}$)	10/77
شن (%)	64/56	نیتروژن کل (درصد)	0/044
کلاس بافت خاک	لوم شنی	فسفر قابل جذب($mg.kg^{-1}$)	8/79
pH	7/4	پتاسیم قابل جذب($mg.kg^{-1}$)	180
EC ($dS.m^{-1}$)	1/28	Fe ($mg.kg^{-1}$) *	12/3
کربنات کلسیم معادل (%)	6/77	Mn ($mg.kg^{-1}$) *	9/32
کربن آلی (%)	0/63	Cu ($mg.kg^{-1}$) *	0/63
درصد اشباع	29/1	Zn ($mg.kg^{-1}$) *	0/71
محلول Na^{+}($meq.l^{-1}$)	2/46	HCO_3^{-1}($meq.l^{-1}$)	4/1
Ca^{+2} ($meq.l^{-1}$)	8/4	Cl^{-1} ($meq.l^{-1}$)	3/8

*DTPA-Extractable

تعداد چهار عدد گیاهچه یکنواخت به هر گلدان منتقل شدند. آبیاری گلدان‌ها تا پایان آزمایش بوسیله آب مقطر تا رسیدن به دامنه 70 تا 80 درصد ظرفیت زراعی به روش وزنی صورت گرفت. گلدان‌های هر هفته به طور تصادفی بر روی سینک گلخانه جابه‌جا شدند. 90 روز پس از کاشت و رسیدن به مرحله گلدهی کامل، شاخص میزان کلروفیل برگ با کلروفیل‌متر دستی SPAD-502 اندازه‌گیری و عدد کلروفیل‌متر یادداشت وسپس اندام هوایی مرزه در هر گلدان از نزدیک سطح خاک قطع گردید. در ادامه، ریشه‌ها به دقت از خاک خارج گردیدند. به منظور جلوگیری از هدررفت ریشه‌های مویین، شستشوی ریشه‌ها روی الک انجام شد. نصف گیاهان در هر گلدان برای اسانس‌گیری جدا و به منظور حفظ کمیت و کیفیت اسانس، در سایه و دمای محیط خشک شده و اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب بوسیله دستگاه کلونجر در مدت سه ساعت اسانس‌گیری استخراج شدند. عملکرد اسانس در واحد گلدان بر اساس عملکرد زیست توده و درصد اسانس محاسبه گردید (هادیان و همکاران 2010). آب تقطیر باقیمانده داخل بالن کلونجر بعد از اتمام اسانس‌گیری صاف و در یخچال تا زمان آنالیز عناصر نگهداری گردید (زلجازکوف و همکاران 2011). تفاله گیاهان بعد از اسانس‌گیری هوا خشک و در آون با دمای 70 درجه سلسیوس به مدت 72 ساعت تا ثابت شدن مقدار وزن آنها قرار گرفتند (زلجازکوف و همکاران 2006). نصف دیگر شاخساره نیز پس از ثبت وزن تر و اندازه‌گیری یک گرم از نمونه‌های پودر شده اندام هوایی و تفاله با دقت 0/0001 وزن و داخل کروزه ریخته و کروزه‌ها داخل کوره با دمای 550 درجه به مدت 5 ساعت، قرار داده شد. با استفاده از 20 میلی‌لیتر اسید کلریدریک نرمال و حرارت دادن روی اجاق شنی، نمونه گیاهی هضم شده و عصاره تهیه گردید. جهت اندازه‌گیری مقدار عناصر آب تقطیر، 10 میلی‌لیتر از عصاره صاف شده توسط پیپت حباب‌دار برداشت و داخل کروزه ریخته شد. این نمونه‌ها تا متوقف شدن بخارات در روی هیتر حرارت و سپس کروزه‌ها به مدت چهار ساعت در دمای 400 درجه سلسیوس در کوره قرار داده شد. پس از خارج کردن کروزه از کوره، دو میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه و تا تبخیر شدن اسید بر روی هیتر حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت دوباره در کوره قرار داده شده و پس از سرد شدن دو میلی‌لیتر اسید کلریدریک 20 درصد اضافه

Archive of SID

www.SID.ir

شده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن 42 در داخل یک بالن 10 میلی‌لیتری صاف و به حجم رسانده شد (زلجازکوف و همکاران 2006). غلظت عناصر مس و روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu AA 6400 –قرائت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9/2 انجام و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری یک و پنج درصد صورت گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس (جدول 2) نشان داد که، اثر کاربرد مس و روی در خاک بر وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل و سطح برگ معنی‌دار ($p\leq0/01$) بود. همچنین بر وزن تر و خشک اندام هوایی تیمار مس تاثیر معنی‌داری ($p\leq0/05$) و تیمار روی ($p\leq0/01$) داشتند. برهمکنش آن‌ها نیز تاثیر معنی‌داری بر وزن‌تر ریشه و کلروفیل ($p\leq0/05$) و وزن خشک ریشه ($p\leq0/01$) داشت، بر وزن تر و خشک اندام هوایی برهمکنش مس و روی تاثیر معنی‌داری نداشتند. با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول 4)، بیشترین مقدار وزن‌تر و خشک ریشه و اندام هوایی، شاخص کلروفیل و سطح برگ از ترکیب سطوح پایین مس و روی (Cu_5Zn_{10}) و کمترین میزان صفات مذکور از ترکیب سطوح بالای مس و روی ($Cu_{25}Zn_{50}$) حاصل شد. کاربرد سطوح پایین روی (Cu_0Zn_{10}) سبب افزایش 3/50، 5/30، 2/08، 4/93 ، 0/29 و 1/64 درصد به ترتیب در شاخص کلروفیل، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و سطح برگ گردید. مصرف سطوح پایین مس (Cu_5Zn_0) نیز به افزایش 3/31، 7/43 و 5/29 درصد به ترتیب در شاخص کلروفیل، وزن تر ریشه و سطح برگ منجر گردید. هرچند این افزایش فقط در مورد شاخص کلروفیل از لحاظ آماری به صورت معنی‌دار بود. کاربرد سطوح بالای روی (Cu_0Zn_{50}) سبب کاهش 1/56، 22/75، 6/25، 18/89، 22/83 و 4/07 درصد و سطوح بالای مس ($Cu_{25}Zn_0$) سبب کاهش 1/11، 22/38، 5/55، 16/01، 11/64 و 3/96 درصد به ترتیب در شاخص کلروفیل، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و سطح برگ شدند. هرچند که این کاهش در شاخص کلروفیل، وزن تر ریشه و سطح برگ نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مس و روی در سطوح پایین (به ترتیب پنج و 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد، اثر مثبت بر صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده داشته است. به طوری‌که در ارتباط با صفات مورد بررسی، تیمار Cu_5Zn_{10} بیشترین مقدار صفات مورد نظر را در میان تیمارهای به کار برده شده به خود اختصاص داد، که می‌تواند مربوط به تولید مناسب مواد تنظیم کننده رشد گیاه مانند اکسین، افزایش ظرفیت ریشه‌زایی گیاه، افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی، افزایش فتوسنتز و تنفس، بهبود جذب سایر عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف از خاک باشد که در نتیجه موجب افزایش صفات مورد نظر گردیده است. تناسب مناسب مس و روی، رشد گیاه را افزایش و تاثیر مطلوبی بر ویژگی‌های رویشی دارد (بوربوری و طهرانی 1389، اونسل و همکاران 2000 و کاباتا - پندیاس 2001). افزایش عملکرد ماده خشک در مطالعات میسرا و همکاران (2006)، پانده و همکاران (2007) و خان و همکاران (2002) به ترتیب در گیاه دارویی ریحان، نعناع و برنج، افزایش سطح برگ در مطالعات زارع ده آبادی و همکاران (1386) و حیدری و همکاران (1387) به ترتیب در گیاه نعناع و نعناع فلفلی، افزایش شاخص کلروفیل در مطالعات پیرزاد و همکاران (1392)، زاید و همکاران (2011) و کبرائی و همکاران (2011) به ترتیب در گیاه انیسون، برنج و سویا، افزایش عملکرد ریشه در مطالعات بوربری و طهرانی (1389) و عالم و همکاران

Archive of SID

www.SID.ir

(2001) به ترتیب در گیاه گندم و برنج در اثر کاربرد عناصر کم‌مصرف گزارش کرده‌اند.

مصرف سطوح بالای مس و روی بر مرزه عملکرد صفات فوق الذکر را کاهش داد. این تاثیر می‌تواند ناشی از کاهش سرعت تقسیم و طویل شدن سلول‌ها، ممانعت از توسعه و افزایش تشکیل ریشه‌های جانبی، تاثیر منفی بر تولید هورمون محرک رشد اکسین، ممانعت از سنتز پروتئین، کاهش فتوسنتز و تنفس، کاهش انرژی در دسترس گیاه، کاهش جذب فعال و برهم خوردن تعادل عناصر غذایی باشد (زارع ده آبادی و همکاران 1387 و پریتی پانده و همکاران، 2007). تاثیر منفی سطوح بالای مس و روی بر عملکرد ماده خشک اندام هوایی در مطالعات زارع ده آبادی و همکاران (1387) و پریتی پانده و همکاران (2007) در گیاه نعناع، بر عملکرد ماده خشک ریشه در مطالعات ال- تایب و همکاران (2006) و چافای و همکاران (2005) در گیاهان آفتابگردان و مرزه ، بر کلروفیل در مطالعات ال –تایب و همکاران (2006) و واسیلو و همکاران (2003) به ترتیب در مورد گیاهان آفتابگردان و جو، کاهش سطح برگ در مطالعات پاندی و تریپاتی (2011) و راوت و داس (2003) گزارش گردیده است.

درصد و عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول 2) نشان دهنده اثر معنی‌دار مس و روی بر عملکرد اسانس اندام هوایی ($p\leq0/01$) بود، و اثرات برهمکنش این عناصر بر عملکرد اسانس معنی‌دار نگردید. مس، روی و برهمکنش آنها تاثیر معنی‌داری بر درصد اسانس اندام هوایی گیاه مرزه نداشتند (جدول 2). بیشترین عملکرد و درصد اسانس از برهمکنش سطوح پایین مس و روی (Cu_5Zn_{10}) به میزان 82/69 میلی‌گرم بر گلدان 0/98 درصد و کمترین آنها نیز از ترکیب بالاترین سطح مس و روی به کار برده شده ($Cu_{25}Zn_{50}$) به میزان 48/26 میلی‌گرم بر گلدان و 0/96 درصد حاصل شد. عملکرد اسانس (15/25 و 11/62 درصد) و درصد اسانس (14/28 و 16/32 درصد) افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح پایین روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. هرچند این افزایش‌ها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. کاربرد سطوح بالاتر روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) نیز در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش 20/43 و 5/53 درصد در عملکرد اسانس و افزایش 3/06 و 6/12 درصد در درصد اسانس را منجر گردید (جدول 4). به طور کلی، تولید اسانس حاصل مجموعه فرآیندهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی می‌باشد. در این رابطه عوامل محیطی تاثیر به سزایی در تولید اسانس دارد. از جمله عوامل محیطی می‌توان به عناصر غذایی و از جمله مس و روی اشاره کرد. مس و روی به عنوان یک عنصر کم‌مصرف نقش بسیار مهمی در رشد و نمو و تولید اسانس توسط گیاهان دارویی دارند. این عناصر در سطوح پایین سبب افزایش فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی ، افزایش فتوسنتز و تنفس و افزایش انرژی لازم برای بیوسنتز ترکیبات ترپنی، افزایش سطح برگ و تعداد غدد ترشح کننده اسانس می‌شوند. همچنین سطوح بالای این عناصر نیز بدلیل تاثیر منفی بر فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی، باعث کاهش درصد و عملکرد اسانس می‌گردد (پیرزاد و همکاران 1391، پریتی پانده و همکاران 2007 و استریت 2012). عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و عملکرد وزن خشک اندام هوایی می‌باشد، با توجه به اینکه در این پژوهش درصد اسانس تحت تاثیر سطوح مس و روی تغییر چندانی نمی‌کند ولی به علت افزایش عملکرد ماده خشک در سطوح پایین و کاهش آن در سطوح بالای مس و روی، عملکرد اسانس به ترتیب با خیز و افت مواجه می‌شود. نتایج این تحقیق مبنی بر تاثیر مثبت عناصر کم‌مصرف بر درصد و عملکرد اسانس با یافته‌های حیدری و همکاران (1387) و پیرزاد و همکاران (1391) و تاثیر منفی سطوح بالای این عناصر با یافته‌های پانده و

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران (2007) و دودراوا و همکاران (2004) مطابقت دارد. به نظر می‌رسد مس و روی به عنوان یک عنصر تغذیه‌ای نقش مهمی در رشد و نمو گیاه و فرآیندهای متابولیسمی فتوسنتز دارند، بنابراین کاربرد مس و روی با بهینه نمودن دسترسی گیاه مرزه به عناصر غذایی سبب افزایش رشد و عملکرد آن نسبت به تیمار شاهد و تیمار زیادبود عناصر مس و روی گردید. کمبود و یا زیادبود مس و روی در تبادل و فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه می‌تواند اختلال بوجود آورده و موجب کاهش رشد و نمو و در نتیجه کاهش میزان عملکرد شود، پس افزایش مقادیر مس و روی از حد بهینه باعث کاهش ویژگی‌های رویشی می‌شود. کاهش مقادیر پارامترهای مورفولوژیکی و درصد و عملکرد اسانس در تیمار شاهد و یا زیادبود عناصر مس و روی می‌تواند به‌ترتیب ناشی از دسترسی کمتر یا زیاد به این عناصر باشد. به هر حال هرگونه اقدامی در راستای بهینه نمودن دسترسی گیاه به عناصر غذایی ضروری می‌تواند موجب افزایش عملکرد کمی و کیفی شود.

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی تحت تاثیر عناصر مس و روی در گیاه مرزه

		میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	وزن‌تر اندام هوایی	وزن‌تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلروفیل	سطح برگ	میزان اسانس	عملکرد اسانس
مس	2	96/13*	28/74**	0/92*	0/11**	10/25**	3651/3**	0/044ns	415/36**
روی	2	151/91**	21/37**	4/86**	0/49**	5/42**	3432/46**	0/051ns	1075/40**
مس × روی	4	28/39ns	3/94*	0/12ns	0/07 **	1/69*	1296/99ns	0/022 ns	67/51ns
خطا	18	17/63	1/13	0/25	0/007	0/57	551/25	0/006	61/41
ضریب تغییرات		8/74	4/77	8/32	6/60	1/91	4/96	8/05	12/25

**، * و ns بترتیب بیانگر معنی‌دار درسطح یک درصد، پنج درصد وغیرمعنی دار می‌باشد.

جدول3- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی تحت تاثیر عناصر مس و روی در گیاه مرزه

		میانگین مربعات					
منابع تغییر	درجه آزادی	غلظت مس اندام هوایی	غلظت مس تفاله	غلظت مس آب تقطیر	غلظت روی اندام هوایی	غلظت روی تفاله	غلظت روی آب تقطیر
مس	2	362/48**	164/96**	32/45**	3525/34**	2159/29**	21/62**
روی	2	77/76**	46/98**	1/14**	13348/48**	7791/20**	105/56**
مس × روی	4	7/98 **	6/91**	0/26**	875/21**	470/01**	5/90**
خطا	18	0/57	0/08	0/029	28/29	11/05	0/29
ضریب تغیرات		7	3/78	6/59	6/96	6/00	4/03

**، * و ns بترتیب بیانگر معنی‌دار درسطح یک درصد، پنج درصد وغیرمعنی‌دار می‌باشد.

غلظت مس و روی اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر

کاربرد مس و روی و همچنین اثر برهمکنش آن‌ها تاثیر معنی‌داری ($p\leq0/01$) بر غلظت مس و روی اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر گیاه مرزه داشتند (جدول 3). بیشترین غلظت مس اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر مربوط به تیمار ($Cu_{25}Zn_{10}$) و کمترین آن‌ها نیز مربوط به تیمار (Cu_0Zn_{50})بود. بیشترین غلظت روی اندام هوایی و تفاله از تیمار (Cu_5Zn_{50}) و آب تقطیر از تیمار (Cu_0Zn_{50}) و کمترین آن‌ها نیز از کاربرد تیمار ($Cu_{25}Zn_0$) حاصل شد. غلظت مس اندام هوایی (53/20

Archive of SID

www.SID.ir

و 118/54 درصد)، غلظت مس تفاله (56/73 و 120/51 درصد)، غلظت روی اندام هوایی (85/05 و 19/76 درصد)، غلظت روی تفاله (100/31 و 14/43 درصد) و غلظت روی آب تقطیر (19/12 و 0/26 درصد) افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح پایین روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. همچنین غلظت مس آب تقطیر در سطوح پایین روی (Cu_0Zn_{10}) کاهش 6/52 درصدی و در سطوح پایین مس (Cu_5Zn_0) افزایش 146/73 درصدی را نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد سطوح بالای مس ($Cu_{25}Zn_0$) باعث افزایش 304/63، 281/08 و 409/78 درصدی در غلظت مس و کاهش 15/20، 0/32 و 27/26 درصدی در غلظت روی، به ترتیب اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر گردید. کاربرد سطوح بالای روی (Cu_0Zn_{50}) باعث افزایش 232/28، 243/19 و 82/49 درصدی در غلظت روی و کاهش 8/38، 0/32 و 16/30 درصدی در غلظت مس، به ترتیب اندام هوایی، تفاله و آب تقطیر گردید. در رابطه با افزایش غلظت مس و روی در اندام‌های مختلف گیاه مرزه با کاربرد این عناصر در خاک می‌توان عنوان کرد، سبک بودن بافت خاک و ظرفیت تبادل کاتیونی پایین خاک، تثبیت این عناصر در خاک را کمتر و قابلیت دسترسی در خاک افزایش می‌یابد و گیاه بهتر عناصر مصرفی را جذب نموده و غلظت آن‌ها در اندام هوایی افزایش یافته است. محدوده طبیعی مس و روی در گیاه به ترتیب پنج تا 20 و 20 تا 400 میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک می‌باشد و در غلظت‌های پایین و بالاتر از این‌ها بروز علائم کمبود و بیش‌بود محتمل خواهد بود. لذا فقط در بالاترین سطح مس استفاده شده، غلظت مس بالاتر از حد طبیعی بود و هیچ گونه علائم ظاهری زیادبود در گیاه مشاهده نگردید. سطوح پایین مس و روی باعث تحریک جذب یکدیگر و سطوح بالای آن‌ها نقش منفی در جذب همدیگر ایجاد کردند. نتایج این تحقیق با یافته‌های بوربوری و طهرانی (1389) و اونسل و همکاران (2000) و کاباتا-پندیاس (2000) مطابقت دارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت مس و روی در تفاله و آب تقطیر تقریبا مشابه غلظت این گیاهان قبل فرآیند تقطیر و اسانس‌گیری بود. این مطلب مبین آن است که در طول فرآیند اسانس گیری به روش تقطیر با آب با دستگاه کلونجر، فلزات سنگین مس و روی در تفاله باقی مانده و تولید اسانس عاری از فلزات سنگین در گیاهان دارویی کشت شده در خاک‌های آلوده امکان پذیرخواهد بود. بنابراین با کشت گیاهان دارویی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بدلیل باقی ماندن این فلزات در تفاله و آب تقطیر، اسانس تولید شده می‌تواند بدون هیچ گونه خطری در صنایع آرایش، بهداشتی و مواد غذایی استفاده گردد. زلجازکوف و همکارن (2006) گزارش داده است که فلزات سنگین در گیاهان دارویی کشت شده در خاک‌های آلوده در تفاله باقی و اسانس عاری از فلزات تولید می‌شود. لذا نتایج این تحقیق با یافته‌های این محقق مطابقت دارد.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی نتایج نشان داد که مس و روی در سطوح پایین موجب افزایش معنی دار در – ویژگی هایمورفولوژیک و عملکرد اسانس در این گیاه دارویی شد.- مصرف توام مس و روی نسبت به مصرف هر یک از آنها به طور جداگانه تاثیر بیشتری در صفات مورد بررسی داشت. ولی سطوح بالای همین عناصر باعث بازدارندگی رشد و کاهش عملکرد اسانس گردید. با افزایش مس و روی در خاک غلظت آنها در اندام هوایی افزایش یافت. سطوح پایین مس و روی باعث تحریک جذب و سطوح بالای آنها نقش ممانعت کنندگی در جذب همدیگر داشتند. غلظت مس و روی در تفاله و آب تقطیر تقریبا مشابه غلظت این گیاهان قبل فرایند تقطیر و اسانس گیری بود. با توجه به باقی ماندن مس و روی در تفاله و آب تقطیر، کشت و کار این گیاه دارویی در خاک‌های دارای آلودگی مس و روی با نگرانی کمتری می‌تواند بررسی و انجام شود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 4- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر عناصر مس و روی در گیاه مرزه

تیمار	غلظت مس اندام هوایی (mg/kg)	غلظت مس تفاله (mg/kg)	غلظت مس آب تقطیر (mg/kg)	غلظت روی اندام هوایی (mg/kg)	غلظت روی تفاله (mg/kg)	غلظت روی آب تقطیر (mg/kg)
Cu_0Zn_0	4/53 f	3/12g	0/92g	41/23ef	28/20f	11/14d
Cu_0Zn_{10}	6/94 e	4/89 f	0/86g	76/30bc	56/49 d	13/27c
Cu_0Zn_{50}	4/15 f	3/11 g	0/77 g	137/00 a	96/78 b	20/33a
Cu_5Zn_0	9/90 d	6/88e	2/27 e	49/38 de	32/27f	11/17 d
Cu_5Zn_{10}	12/46 c	9/02c	2/68d	85/18 b	62/43c	12/08d
Cu_5Zn_{50}	6/52 e	4/92f	1/91f	144/43 a	108/26a	17/34b
$Cu_{25}Zn_0$	18/33 b	11/89 b	4/69 b	34/96 f	20/51 g	9/66 e
$Cu_{25}Zn_{10}$	21/86 a	16/20 a	5/21 a	57/30 d	41/23 e	11/70d
$Cu_{25}Zn_{50}$	12/97 c	8/47d	3/94 c	73/86 c	52/17 d	14/09 c

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول 4-

	میانگین مربعات							
تیمارها	وزن‌تر اندام هوایی (g/pot)	وزن‌تر ریشه (g/pot)	وزن خشک اندام هوایی (g/pot)	وزن خشک ریشه (g/pot)	کلروفیل (SPAD)	سطح برگ (Cm^2)	میزان اسانس (%)	عملکرد اسانس (mg/pot)
Cu_0Zn_0	51/27abc	13/58a	6/70ab	1/44b	39/62b	474/99bc	0/98bc	65/96bcd
Cu_0Zn_{10}	53/80ab	14/30a	6/72ab	1/47ab	41/01a	482/81bc	1/12abc	76/02 ab
Cu_0Zn_{50}	41/58d	10/49b	5/17d	1/35b	39/00bc	455/62c	1/01bc	48/52 de
Cu_5Zn_0	51/17abc	14/59a	6/40abc	1/41b	40/94a	500/12 ab	1/14 ab	73/63abc
Cu_5Zn_{10}	55/57a	14/76a	6/99a	1/61a	41/62a	532/28a	1/18 a	82/69 a
Cu_5Zn_{50}	45/52cd	10/63 b	5/50cd	0/96c	39/22bc	448/12c	0/98bc	54/43 de
$Cu_{25}Zn_0$	43/06d	10/54b	5/92bcd	1/36b	39/18bc	456/17c	1/04abc	62/31bcde
$Cu_{25}Zn_{10}$	46/19bcd	9/80b	6/16abc	1/40b	38/18c	453/65c	0/97bc	59/69cde
$Cu_{25}Zn_{50}$	43/94cd	9/65b	5/02d	0/84c	38/12c	450/12 c	0/96 c	48/26 e

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

منابع مورد استفاده

آقاعلیخانی م، ایرانپور آ و نقدی بادی ح، 1392. تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل تحت تاثیر اوره و کود زیستی. فصلنامه گیاهان دارویی، 12(2): 136-121.

بوربوری م ر و طهرانی مم، 1389. اثر برهمکنش مقادیر و روش مصرف مس و روی بر خصوصیات گیاهی و پروتئین گندم. فصلنامه فیزیولوژی گیاهان زراعی، 2(8): 44-29.

Archive of SID

www.SID.ir

هادیان ج، 1387. بررسی تنوع ژنتیکی گونه های مرزه بومی ایران. رساله دکتری علوم باغبانی،پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

ملکوتی م ج، کشاورز پ و کریمیان ن، 1387. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.

نقدی بادی ح، زینلی مبارکه ز، امیدی ح و رضازاده ش، 1391. تغییرات مورفولوژیک، زراعی و فیتوشیمیایی گاو زبان (*Borago-officinalis* L.) تحت تاثیر کودهای شیمیایی و زیستی، 11(2): 156-146.

زارع ده آبادی س و اسرار ز، 1387. اثر مقدار اضافی عنصر روی بر میزان تجمع برخی عناصر ضروری و پاسخ های آنتی اکسیدانی گیاه دارویی نعناع سبز. دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 24(4): 530-540.

زارع ده آبادی س، اسرار ز و مهربانی م، 1389. تغییرات بیوشیمیایی میزان ترپنوئیدهای موجود در اسانس گیاه دارویی نعناع سبز در پاسخ به تیمار مقدار اضافی روی، مجله زیست شناسی ایران، 2(1): 34-25.

زرگری ع، 1367. گیاهان دارویی، جلد دو، انتشارات دانشگاه تهران.

پیرزاد ع، طوسی پ و درویش زاده ر، 1392. اثر محلول پاشی آهن و روی بر صفات گیاهی و میزان اسانس انیسون. مجله علوم زراعی ایران، 15(1): 23-12.

پیوندی م، رفعتی آ و میرزا م، 1387. تاثیر ازت و فسفر بر رشد و میزان اسانس *Artemisia annua* L. دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 25(1): 84-75.

حیدری ف، زهتاب سلماسی س، جوانشیر ع، آلیاری ح و دادپور م، 1387. تأثیر نحوه مصرف ریزمغذی‌ها و تراکم بوته بر عملکرد و اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.). دو ماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 24 (1): 9-1.

Alam SM, Khan MA and Ansah R, 2001. Effect of different levels of zinc and phosphorus on seedling growth, chlorophyll and peroxidase contents of rice. Journal of Biological Science, 1(2): 49-51.

Bagdat E and Ebrahem M, 2007. Phytoremedationbehavior of some medicinal and aromatic lands to various pollutants. Journal of Field Crops Central Research Institute (Ankara).

Bouyoucos GJ, 1962. Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. Agronomy Journal, 54: 464-465.

Bremner J and Mulvaney C, 1982. Nitrogen total. Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties, 595-624.

Chaffai R, Tekitek A and El-Ferjani E, 2005. Comparative effects of copper and cadmium on growth and lipid content in maize seedlings (*Zea mays* L.). Pakistan Journal Biological Science, 8(4): 649-655.

Dudareva N, Pichersky E and Gershenzon J, 2004. Biochemistry of plant volatiles. Plant physiology, 135(4): 1893-1902.

El-Tayeb MA, El-Enany AE and Ahmed N, 2006. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regulation. 50(2): 191-199.

Gaetke LM and Chow CK, 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. Toxicology, 189: 147-163.

Archive of SID

www.SID.ir

Gupta P,1999. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agro Botanica. New Delhi. India.

Hadian J, NejadEbrahimi S and Salehi P, 2010. Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. Industrial Crop and Products, 32: 62-69.

Haluschak P, 2006. Laboratory methods of soil analysis. Canada-Manitoba Soil Survey, 3-133.

Hussein FH, Khalife RKM, El-Mergawi RA and Youssef AA, 2006. Utilization of Treated Municipal Wastewater for Growing Some Aromatic Plants to Produce Volatile Oils and Study Its Nutritional Status in Arid Region. Pp. 1-12. The 2nd International Conference on Water Resources and Arid Environment. Egypt.

Kabata-Pendias A, 2001.Trace Elements in Soils and Plants (3th Ed). CRC Press. 331page.

KhanMU, Qasim M and Jamil M, 2002. Effect of different levels of zinc on the extractable zinc content of soil and chemical composition of rice. Asian Journal of Plant Science, 1(1): 20-21.

Kobraee S, Shamsi K and Ekhtiari S, 2011. Soybean nodulation and chlorophyll concentration (SPAD value) affected by some of micronutrients. Annals of Biological Research, 2 (2): 414-422.

Misra A, Dwivediet S, Srivastava AK, Tewari DK, Khan A and Kumar R, 2006. Low iron stress nutrition for evaluation of Fe-efficient genotype physiology, photosynthesis, and essential monoterpene oil(s) yield of *Ocimum sanctum*.Photosynthetica, 44(3): 474-477.

Öncel I, Keleş Y and Üstün A, 2000. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. Environmental Pollutants, 107(3): 315-320.

Page AL, 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.

Pandey P and Tripathi AK, 2011.Effect of heavy metal on morphological and biochemical characteristics of *Albizia procera (Roxb) Benth* Seedlings. International Journal of Environmental Science, 5 (1): 1009-1018.

Preetipande M, Anwar SC, Yadov V and Patra D, 2007. Optimal level of Iron and Zinc in relation to its influence on herb yield and protection of essential oil in menthol mint. Communication of Soil science and Plant Analysis, 38: 561-578.

Rechinger KH, 1982. Satureja. In Flora:Iranica No. 150, Akademische Druck - u. Verlagsanstalt - Graz Austria: 495–504.

Rout GR and Das P, 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism. Agronomie, 23, 3-11.

Sparks D L, 1996. Methods of soil analysis. Part 3, Chemical methods: Soil Science Society of America Inc.

Street R, 2012. Heavy metals in medicinal plant products.An African perspective. South African Journal Botany, 78: 116-121.

Talukder KH, Ahmed AU, Islam MS, Asaduzzaman M and Hossain MD, 2011. Incubation studies on exchangeable Zn for varying levels of added Zn under aerobic and anaerobic conditions in grey terrace soils, non calcareous floodplain soils and calcareous floodplain soils. Journal Science of Foundation, 9: 9-14.

Vassilev A, Lidon F, Ramalho J, Matos DO and Graca M, 2003. Effects of excess Cu on growth and photosynthesis of barley plants. Implication with a screening test for Cu tolerance. Journal of Central European Agricultural, 4(3): 225-236.

Walkley A and Black IA, 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 37 (1): 29-38

Zayed BA, Salem AK and Sharkawy El, 2011. Effect of Different Micronutrient Treatments on Rice (*Oriza sativa* L.) Growth and Yield under Saline Soil Conditions. World Journal Agricultural Science, 7 (2): 179-184.

Archive of SID

www.SID.ir

Zheljazkov VD and Astatkie T, 2011. Effect of residual distillation water of 15 plants and three plant hormones on Scotch Spearmint (*Mentha gracilis* sole). Industrial Crop and Products, 33: 704-709.

Zheljazkov VD, Craker LE and Xing B, 2006. Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. Environmental and Experimental Botany, 58 (1): 9-16.

Archive of SID

www.SID.ir