ارزیابی میزان مقاومت گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.) به سرب در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در دو رویشگاه مختلف

بهروز دوستی*[۱]، رضا دریکوند[۲]، حمزه امیری[۳]

[۱] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خرم آباد، خرم آباد، ایران.

[۲] مربی، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد، خرم آباد، ایران.

[۳] استادیار، گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۱۸

چکیده

آلودگی خاک‌های زراعی به فلزات سنگین از جمله سرب یکی از مشکلات عمده زیست محیطی می‌باشد. آلودگی سرب باعث محدودیت در رشد و نمو گیاهان می‌شود و از طرفی تهدیدی جدی برای سلامتی انسان محسوب می‌گردد. در این پژوهش میزان مقاومت گیاه سماق به فلز سرب در دو مرحله تکوینی جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در دو رویشگاه ملک آباد لرستان و سماق سرب زنجان در سال ۱۳۹۰ به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی اجرا گردید. گیاهان برای ارزیابی اثرات سرب روی سرعت و درصد جوانه‌زنی و پارامترهای رشدی شامل وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و مقدار کلروفیل کل در محلول غذایی حاوی غلظت‌های مختلف نیترات سرب کشت شدند و نتایج نشان داد که میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس درصد و سرعت جوانه‌زنی سماق در ۲ رویشگاه مذکور در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. لکن تفاوت بین شش غلظت مختلف سرب (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی مولار) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل رویشگاه و غلظت روی کلیه پارامترهای مورد بررسی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر ساده و متقابل نوع رویشگاه و غلظت‌های مختلف بکار رفته بر پارامترهای رشدی گیاهچه ای از نظر آماری معنی‌دار بود. بیشترین مقدار پارامترهای رشدی گیاهچه ای مربوط به رویشگاه ملک آباد و کمترین مقدار مربوط به رویشگاه زنجان بود. با توجه به مقاومت نسبی و زنده مانی گیاهچه‌های سماق در حضور مقادیر بالای سرب و با مطالعات بیشتر می‌توان گیاه سماق را نیز در ردیف گیاهانی قرار دارد که جهت گیاه پالایی از آلودگی‌های زیست محیطی سرب می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: آلودگی، پارامترهای رشدی، غلظت‌های سرب، گیاه پالایی

مقدمه

آلودگی محیط زیست به فلزات سنگین به علت فعالیت‌های صنعتی و معدن کاوی بشر در چند دهه اخیر به یکی از معضلات زیست محیطی تبدیل شده که سلامت جانوران، گیاهان و جوامع انسانی را به خطر انداخته است (Fernandes and Henrique, 1991). برخی از فلزات سنگین به عنوان عناصر میکرو برای رشد گیاهان ضروری هستند، ولی بخش عمده آنها بازدارنده رشد گیاه بوده و باعث ایجاد اختلالات متابولیکی در اکثر گونه‌های گیاهی می‌گردند

*مسئول مکاتبه: doostybehrooz@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

(Claire et al., 1991). سرب یکی از فلزات سنگین است که به شدت برای انسان و گیاهان سمی می‌باشد. اثرات سمی و بازدارندگی سرب بر فرآیندهای متابولیکی و رشد و نموی گیاهان نظیر فتوسنتز، جوانه‌زنی بذر، تعرق، توازن آبی، تغذیه معدنی، نفوذپذیری غشاء، تعادل هورمونی، سنتز DNA، فعالیت میتوزی و تقسیم سلولی گزارش گردیده است (Malkovski et al., 2002). کاهش وزن تر و خشک ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، کاهش طول ریشه‌ها و ساقه، کاهش سطح پهنک برگ، تغییر در ساختار کلروپلاستها و به هم ریختن ساختار لیپیدی غشاهای تیلاکوئیدی، کاهش در غلظت انواع کلروفیل a وb، افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز نیز از جمله اثرات فیزیولوژیکی ناشی از آلودگی گیاه به سرب می‌باشند (لاری یزدی و همکاران، ۱۳۹۰؛ Islam et al., 2008; Ayas and Kadioglu, 1997). سرب با شدت به دیواره سلولی متصل می‌شود و به همین دلیل بخش عمده ای از سرب جذب شده توسط گیاه در آپوپلاست ریشه باقی می‌ماند و انتقال آن به ساقه کم است مقدار سرب موجود در گیاهان می‌تواند به طور معمول در حد ۲ تا ۳ میکروگرم در هر گرم ماده خشک گیاه برسد ولی در گیاهان مقاوم این مقدار ممکن است از ۱۰۰ میکروگرم در هر گرم ماده خشک گیاه نیز تجاوز نماید (حق‌پرست تنها، ۱۳۷۱). جوانه‌زنی و رشد و نمو دانه رستها مراحل مهمی از زندگی گیاه کامل و همچنین حساس ترین مراحل زندگی گیاه نسبت به تغییرات محیط پیرامون هستند بنابراین مطالعه این مراحل در گیاهانی که در معرض تنش قرار گرفته‌اند راه مناسبی برای درک اثرات آنها بر گیاهان محسوب می‌شود(صابری و همکاران، ۱۳۸۹). پاسخ گیاهان به آلودگی فلزات سنگین در محیط رشد آنها ممکن است در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه ای متفاوت باشد برای نمونه بررسی تاثیر سطوح مختلف فلزات سنگین روی جوانه‌زنی گیاه ذرت نشان داده است که همگی تیمارهای مورد آزمایش بر جوانه‌زنی بذرهای مورد استفاده تاثیر معنی‌داری نداشته اند لکن در مرحله گیاهچه‌ای کلیه پارامترهای رشدی به شدت محدود گردیده‌اند (Mahmood et al., 2005).

سماق گیاهی دارویی و درختچه ای به ارتفاع تقریبی ۱ تا ۳ متر و متعلق به تیره پسته (Anacardiaceae) می‌باشد که برگ‌ها و میوه‌های آن حاوی مقادیر بالایی از قند، تانن، اسیدهای آلی، روغنهای فرار و آنتوسیانین است و در طب سنتی برای درمان بیمای‌های دهان و گلو به کار می‌رود. برون بر میوه آن نیز به‌عنوان چاشنی غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد (زرگری، ۱۳۷۱). اخیراً فعالیت‌های زیستی متنوعی از قبیل خواص ضدقارچی، ضدالتهابی، ضدمالاریا، ضدویروسی، آنتی اکسیدانت، آنتی‌موتاژنیک، آنتی‌ترومبین، آنتی‌فیبروژنیک، سیتوتوکسیک و لوکوپنیک برای این گیاه دارویی گزارش شده است (احمدیان و همکاران، ۱۳۸٦). گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.) به علت مصارف دارویی و تغذیه ای توسط انسان می‌تواند باعث ورود این فلزات سمی به زنجیره غذایی شود. در این پژوهش نحوه مواجهه و میزان مقاومت گیاه سماق به سطوح مختلف فلز سنگین سرب در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در دو رویشگاه معدن سرب زنجان و ملک آباد چگنی در لرستان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۰ در مجتمع آزمایشگاهی شماره ۱ (علوم زیستی و کشاورزی) دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد در دو مرحله اجرا گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

مرحله اول آزمایش: ارزیابی میزان مقاومت به سرب در مرحله جوانه‌زنی

در این مرحله به‌منظور بررسی اثر نوع رویشگاه و غلظت‌های مختلف سرب بر جوانه‌زنی گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.)، ابتدا بذرها از رویشگاه‌های مربوطه جمع آوری شدند و سطح بذرها با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد به‌مدت ۱۰دقیقه و الکل اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۵ ثانیه ضدعفونی گردیدند و بذرها ی ضدعفونی شده در ظروف پتری حاوی ماسه شسته شده با اسید کشت گردیدند (لازم به ذکر است که ماسه قبل ازاستفاده با اسید کلریدریک ۳ درصد شستشو داده شد و برای حذف کامل اسید و سایر املاح موجود، ۱۰ بار با آب معمولی و در نهایت با آب مقطر شستشو گردید. علت استفاده از ماسه شسته شده، فراهم نمودن شرایط مناسب برای جوانه زنی بذور سماق بود. ضمناً برای شکستن خواب بذرهای سماق از روش خراش دادن با کاغذ سمباده به‌مدت ۵ دقیقه استفاده شد. این آزمایش که به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل بذور جمع‌آوری شده از ۲ رویشگاه معدن سرب زنجان و ملک آباد در لرستان و ٦ غلظت سرب (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار) بود. بعد از اعمال تیمارها، پتری‌ها در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٦۰ درصد و فتوپریود ۱٦:۸ (۱٦ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی) قرار گرفتند (علت انتخاب مقادیر یاد شده دما و رطوبت اپتیمم سازی جوانه‌زنی بذرهای سماق هر دو رویشگاه در شرایط مذکور بود). شمارش بذرهای جوانه زده در هر پتری هر ۲ روز یکبار و از روز دوم پس از کاشت شروع گردید و معیار جوانه‌زنی بذرها این بود که طول محور گیاهچه (مجموع ساقه چه و ریشه چه) کمتر از ۲ میلی‌متر نباشد.

برای تعیین درصد جوانه‌زنی از فرمول GI=(ΣTiNi)/S استفاده گردید بر اساس این فرمول Ti تعداد روزهای پس از کشت، Ni تعداد بذرهای جوانه زده در روز i و S تعداد کل بذرهای کاشته شده می‌باشد. (Scott et al. 1984).

برای تعیین سرعت جوانه‌زنی (GS)[1] از فرمول GS=ΣNi/Di استفاده گردید که بر اساس آن GS سرعت جوانه‌زنی، Ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در روزهای شمارش و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش می‌باشد (شریعت و عصاره، ۱۳۸٦).

(الف)

(ب)

(ج)

شکل ۱.

(الف) درختچه سماق در رویشگاه طبیعی

(ب) گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های سماق

(ج) ظروف پتری حاوی بذرهای سماق در ژرمیناتور

jti440

1- Germination speed

Archive of SID

www.SID.ir

مرحله دوم آزمایش: ارزیابی میزان مقاومت به سرب در مرحله گیاهچه‌ای

مرحله دوم آزمایش نیز به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با ترکیبی از دو تیمار رویشگاه و غلظت‌های سرب (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار) در ۳ تکرار انجام شد. در این مرحله، بذرهای سماق در گلدان‌های حاوی ماسه شسته شده با روش ذکر شده در مرحله اول کشت شدند و پس از گذشت ۳ هفته از کشت بذرها، گیاهچه‌های حاصل به‌مدت ۱۰ روز در معرض غلظت‌های مختلف سرب قرار گرفتند. اضافه کردن غلظت‌های مختلف نیترات سرب به گلدان‌های حاوی گیاهچه‌ها به‌صورت یک مرحله‌ای بود و در روز اول تنش به همه گلدان‌ها به جز گلدان‌های شاهد محلول غذایی نیم هوگلند حاوی غلظت‌های مختلف نیترات سرب اضافه گردید. در طول مدت تنش برای جلوگیری از افزایش یا کاهش غلظت سرب در محیط اطراف ریشه، آب از دست رفته به صورت تبخیر و تعرق از طریق اضافه کردن آب مقطر به گلدان‌ها جبران گردید و در نهایت گیاهچه‌های در معرض تنش فرار گرفته برای آنالیز پارامترهای رشد و نموی و اندازه‌گیری مقدار سرب موجود در آنها به آزمایشگاه منتقل شدند. برای اندازه‌گیری وزن‌تر، هر یک از گیاهچه‌ها از ظروف پتری خارج شده و پس از حذف رطوبت سطحی آن، با استفاده از ترازو با دقت یک ده هزارم (۰/۰۰۰۱) توزین گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک نیز ابتدا گیاهچه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد در آون قرار گرفت نهایتاً وزن خشک آنها تعیین شد. برای اندازه گیری سطح برگ هر یک از گیاهچه‌ها از دستگاه اندازه گیری سطح برگ مدل دلتا تی اسکن استفاده گردید.

اندازه گیری کلروفیل

ابتدا ۵ میلی‌گرم از نمونه‌های برگی توزین و به تدریج با اضافه کردن ۱۰ سی‌سی استون ۸۰ درصد درهاون ساییده شد و در نهایت نمونه‌ها صاف شده و یک سی سی از نمونه صاف شده به همراه ۵ سی سی استون در لوله آزمایش ریخته شد و میزان جذب آن را در طول موج ٦٦۳ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت گردید.

آنالیز داده‌های خام حاصل از اندازه‌گیری مرحله اول و دوم آزمایش با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS و مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر رویشگاه و اثر غلظت با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در همان نرم افزار صورت گرفت لکن جهت انجام مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل رویشگاه و غلظت از نرم افزار MSTAT استفاده گردید. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار اکسل استفاده شد.

نتایج

میانگین مربعات حاصل از نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای متعلق به ۲ رویشگاه و ٦ غلظت مختلف سرب در جدول ۱ ارائه گردیده است. براساس این جدول تفاوت بین رویشگاه‌ها در سطح ۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار نبود. لکن تفاوت بین غلظت‌های سرب بکار گرفته شده از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود همچنین اثر متقابل بین رویشگاه و غلظت نیز برای همه تیمارها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

Archive of SID

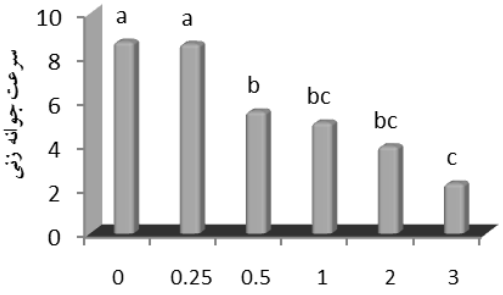
www.SID.ir

جدول ۱. تجزیه واریانس درصد و سرعت جوانه‌زنی گیاه سماق در دورویشگاه ملک آباد لرستان و معدن سرب زنجان در غلظت‌های مختلف سرب

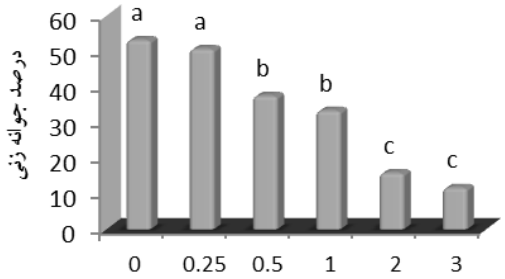
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی
رویشگاه	۱	٤/٦٢^{ns}	٤٨/٠٣^{ns}
غلظت	٥	٣٩/٣٩*	١٨٧٣/٢٩*
رویشگاه * غلظت	٥	٧/٥٣*	٩٨/٠٩*
خطا	٢٤	٤/١٨	١٠٦/٤٤

*معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح ۵ درصد ns غیرمعنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح ۵ درصد

مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر غلظت‌های مختلف سرب روی درصد و سرعت جوانه‌زنی در دو رویشگاه مختلف نشان می‌دهد که بذور سماق در غلظت صفر سرب (شاهد) دارای بالاترین درصد جوانه‌زنی بوده‌اند و در حضور غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌مولار دارای کمترین سرعت و درصد جوانه‌زنی بوده اند (شکل ۱ و ۲). بر این اساس با افزایش غلظت سرب، سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور سماق به‌صورت معنی‌داری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر کاهش یافت.



شکل ۱. مقایسه سرعت جوانه‌زنی گیاه سماق در حضور غلظت‌های مختلف سرب (میلی مولار)



شکل ۲. مقایسه درصد جوانه‌زنی گیاه سماق در حضور غلظت‌های مختلف سرب (میلی مولار)

جدول ۲ اثرمتقابل رویشگاه و غلظت سرب بر درصد و سرعت جوانه‌زنی را نشان می‌دهد که بر اساس آن اثرات متقابل بین دو عامل مذکور باعث تفاوتهای معنی‌داری در میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی شد. در بین تیمارهای مورد آزمایش غلظت ۱ میلی‌مولار در رویشگاه ملک آباد و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان دارای بالاترین سرعت و درصد جوانه‌زنی نسبت به سایر تیمارها بود و تیمارهای غلظت شاهد در رویشگاه زنجان، غلظت شاهد در رویشگاه ملک آباد و غلظت ۳ غلظت میلی‌مولار در رویشگاه زنجان کمترین درصد جوانه‌زنی را داشتند و تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان دادند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرمتقابل رویشگاه و غلظت سرب بر درصد و سرعت جوانه زنی

	سرعت جوانه زنی (تعداد در روز)		درصد جوانه زنی	
	رویشگاه ملک آباد	رویشگاه زنجان	رویشگاه ملک آباد	رویشگاه زنجان
۰ میلی‌مولار	۱/۷۲g	۲/۸۱f	۱۰/۰۰f	۱۳/۳۳f
۰/۲۵ میلی‌مولار	٤/۲۷e	٦/۸۰c	۳۵/۰۰d	۳۱/٦٦d
۰/۵۰ میلی‌مولار	۹/۰٤ab	۸/۳۸b	٤۸/۳۳b	۵۸/۰۰a
۱ میلی مولار	۱۰/۰۰a	۷/۲۱c	۵٦/۳۳a	٤۵/۰۰bc
۲ میلی مولار	۵/٦۱d	٤/٤٦e	٤۱/٦٦c	۳۳/۳۳d
۳ میلی مولار	۵/٤۸d	۲/۳۰fg	۲۰/۰۰e	۱۱/٦٦f

میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پارامترهای رشد گیاهچه ای گیاه سماق جمع آوری شده از ۲ رویشگاه مختلف در ٦ غلظت مختلف سرب در جدول ۳ ارائه گردیده است. بر اساس جدول مذکور تفاوت بین رویشگاهها وغلظت‌های بکار گرفته شده برای کلیه پارامترها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل رویشگاه و غلظت نیز برای همه خصوصیات مورد بررسی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اختلاف بین میزان وزن تر گیاه سماق ۲ رویشگاه در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود به طوری که میزان وزن تر گیاهچه‌های حاصل از بذورجمع آوری شده از رویشگاه ملک آباد بیشتر از رویشگاه معدن زنجان بود. همچنین میزان سایر پارامترهای رشد و نموی مورد آزمایش شامل وزن خشک، سطح برگ و کلروفیل کل در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای رویشگاه ملک آباد نسبت به رویشگاه دیگر به صورت معنی داری بیشتر بودند.

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده برای دو رویشگاه مختلف در حضور غلظت‌های مختلف سرب

منبع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل کل (میلی‌گرم بر وزن تر)	سطح برگی (میلی متر مربع)	وزن خشک (میلی‌گرم)	وزن تر (میلی‌گرم)
رویشگاه	۱	۰/۰۰۵*	۷۹۵۰/٦۹*	۵/۰۰*	۲۸٦۲/۲۹*
غلظت سرب	۵	۰/۱۲۳*	۲۰٦۳/۲۵*	۰/۲۸*	٤۷۵/٦۳*
رویشگاه * غلظت	۵	۰/۰۰۱۷*	۵٦۷/۲۹*	۰/۲۰*	۱۰۹/۹۸*
خطا	۲٤	۰/۰۰۲	۱۵/۸	۰/۰۰۵	۱۵/۸

*معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح ۵ درصد

جدول ٤. مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر رویشگاه‌های مختلف بر پارامترهای رشدی گیاه سماق

تیمار	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	سطح برگی (میلی متر مربع)	وزن خشک (میلی‌گرم)	وزن تر (میلی‌گرم)
رویشگا ملک آباد	۰/۳٦a	۲۱۲/٦۱a	٤/۳۹a	۱٤۳/٦۱a
رویشگاه زنجان	۰/۳٤b	۱۸۲/۸۹b	۳/٦۵b	۱۲۵/۷۸b

میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح ۵ درصد مقایسه شده‌اند و در هر ستون حروف مشابه معرف معنی‌دار نبودن اختلافها می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های سماق در جدول ۵ ارائه گردیده است. جدول مذکور نشان می‌دهد که کلیه صفات اندازه‌گیری شده به جز کلروفیل کل در شاهد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار بیشترین مقدار را دارا بودند و تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند در مورد کلروفیل کل بین غلظت شاهد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار نیز تفاوت معنی‌دار بود به عبارت دیگر افزایش جزئی غلظت سرب (۰/۲۵ میلی‌مولار) در محیط رشد گیاه منجر به کاهش معنی‌دار کلروفیل گردید، ولی سایر صفات (وزن تر، وزن خشک، سطح برگی) را تحت تاثیر قرار نداد. با افزایش غلظت سرب، میزان کلروفیل نیز نظیر سایر پارامترهای رشد و نموی به صورت معنی داری کاهش یافت. البته این کاهش در مورد همه پارامترهای مورد اندازه‌گیری به یک نسبت نبوده است و تفاوتهایی در پاسخ گیاهچه‌ها به حضور غلظت‌های بالای سرب مشاهده شد. در مورد وزن‌تر بین غلظت‌های ۰ و ۰/۲۵ میلی مولار و غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی سایر غلظت‌ها با هم تفاوت معنی‌دار نشان دادند. در مورد وزن خشک نیز غلظت‌ها در ۳ گروه قرار گرفتند (غلظت‌های ۰ و ۰/۲۵ میلی مولار، غلظت‌های ۰/۲۵ و ۱ میلی‌مولار، غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌مولار) در هر گروه، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مورد بررسی از نظر وزن خشک وجود نداشت ولی این ۳ گروه غلظتی نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند و با افزایش غلظت، میزان وزن خشک به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته بود. در مورد سطح برگ نیز پاسخ مشابه بود با این تفاوت که بین غلظت‌های ۲ و ۳ میلی مولار نیز اختلافات معنی داری مشاهده گردید. به این معنی که غلظت‌های ۰ و ۰/۲۵ میلی‌مولار دارای بالاترین مقدار سطح برگ بوده و در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار این مقدار به صورت معنی‌دار کاهش یافته و در نهایت کمترین میزان سطح برگ در حضور غلظت ۳ میلی‌مولار مشاهده گردید. پاسخ میزان کلروفیل کل به افزایش غلظت‌های سرب تا حدودی متفاوت از سایر پارامترها بود و بین همه غلظت‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. لکن همانطور که مشاهده گردید با افزایش میزان حضور سرب در محیط رشد گیاهچه‌ها، همه صفات مورد اندازه گیری به طور معنی داری کاهش یافته‌اند.

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر غلظت‌های مختلف سرب بر پارامترهای رشد و نموی گیاهچه ای

غلظت سرب (میلی مولار)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	سطح برگی (میلی متر مربع)	وزن خشک (میلی‌گرم)	وزن تر (میلی‌گرم)
۰	۰/۵٦a	۲۱۷/٦۷a	٤/۲٦a	۱٤٤/۵۰a
۰/۲۵	۰/٤۳b	۲۱۵/۱۷a	٤/۲۰a	۱٤۲/۵۰ab
۰/۵	۰/٤۰c	۲۰۱/۰۰b	٤/۰۹b	۱۳۸/۱۷bc
۱	۰/۲۹d	۲۰۰/۵۰b	٤/۰۷b	۱۳٤/٦۷c
۲	۰/۲۳e	۱۸۱/٦۷c	۳/۷٦c	۱۲۵/۸۳d
۳	۰/۱۷f	۱۷۰/۵۰d	۳/۷٦c	۱۲۲/۵۰d

میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح ۵ درصد مقایسه شده اند و در هر ستون حروف مشابه معرف معنی‌دار نبودن اختلافها می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٦. مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل رویشگاه و غلظت‌های مختلف سرب روی پارامترهای رشد و نموی

رویشگاه	غلظت سرب (میلی مولار)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	سطح برگی (میلی متر مربع)	وزن خشک (میلی‌گرم)	وزن تر (میلی‌گرم)
ملک آباد لرستان	۰	۰/۰۰۵b	۲۰۳/۷f	٤/۰۱d	۱۳۵/۷d
	۰/۲۵	۰/۰۱ab	۲۰۵/۰e	۳/۹۷d	۱۳۷/۷cd
	۰/۵	۰/۰۲a	۱۹۹/۰h	۳/۷۵f	۱۳۲/۰۰e
	۱	۰/۰۲a	۱۹۰/۰j	۳/۸٤e	۱۲۹/۷e
	۲	۰/۰۱ab	۱۵۳/۰k	۳/۱٦g	۱۰۷/۳f
	۳	۰/۰۰۵۸b	۱٤٦/۰l	۳/۱۳g	۱۰٤/۳g
معدن سرب زنجان	۰	۰/۰۲a	۲۳۱/۷a	٤/۵a	۱۵۱/۳a
	۰/۲۵	۰/۰۱۵ab	۲۲۵/۳b	٤/٤۲b	۱٤٤/۳a
	۰/۵	۰/۰۱۰ab	۲۰۳/۰g	٤/۳۹b	۱۳۹/۷b
	۱	۰/۰۱۵ab	۲۱۱/۰c	٤/۳۲c	۱۳۹/۳c
	۲	۰/۰۱۵ab	۲۰۹/۰d	٤/۳۲c	۱۳۹/۳c
	۳	۰/۰۱ab	۱۹۵/۰i	٤/۳۹b	۱۳۷/۷cd

بررسی جدول ٦ مربوط به مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل رویشگاه و غلظت‌های مختلف سرب روی پارامترهای رشد و نموی گیاهچه‌های سماق نشان داد که در بین تیمارهای مورد آزمایش غلظت شاهد و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان دارای بالاترین وزن تر نسبت به سایر تیمارهای غلظت و رویشگاه بود و تیمار غلظت ۳ میلی مولار در رویشگاه ملک آباد کمترین مقدار را نشان داد. پاسخ میزان وزن خشک به اثرات متقابل رویشگاه و غلظت‌های مختلف سرب تا حدودی مشابه وزن تر می‌باشد، با این تفاوت که بین دو تیمار غلظت شاهد در رویشگاه زنجان و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان تفاوت معنی‌دار وجود داشت و با افزایش غلظت به میزان ۰/۲۵ میلی‌مولار میزان وزن خشک به میزان معنی‌داری کمتر شد. نکته مهم دیگر افزایش وزن خشک در تیمار غلظت ۳ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان نسبت به تیمارهای مربوط به غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان بود

همچنین بررسی نتایج مندرج در این جدول مربوط به مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل رویشگاه و غلظت‌های مختلف سرب روی سطح برگ گیاهچه‌های سماق نیز نشان داد که تیمارهای غلظت شاهد در رویشگاه زنجان و غلظت ۳ میلی‌مولار در رویشگاه ملک آباد به‌ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین میزان سطح برگ در بین همه تیمارها بودند نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محیط رشد این گیاهچه‌ها میزان سطح برگ به تدریج کم شد و به عبارتی فرآیند توسعه برگی محدود گردید. بررسی میزان تغییرات کلروفیل کل گیاهچه‌های سماق دو رویشگاه مورد مطالعه نیز نشان داد که میزان کلروفیل کل در رویشگاه زنجان با افزایش غلظت سرب در محیط رشد گیاهچه‌ها تفاوت معنی داری را نشان نداد و حتی تیمارهای مربوط به غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار رویشگاه ملک آباد دارای بیشترین میزان کلروفیل کل در مقایسه با شاهد بودند.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

بالا بودن درصد جوانه‌زنی گیاه سماق در غلظت شاهد به علت فقدان سمیت ناشی از افزایش یونهای سرب به علت عدم حضور سرب می‌باشد ولی با افزایش غلظت سرب، درصد جوانه‌زنی ارقام مختلف به صورت معنی داری کاهش یافت و این موضوع به علت کند شدن و یا توقف فرآیند جوانه‌زنی در حضور غلظت بالای یون‌های سرب بود. سمیت سرب عمدتاً به این دلیل است که این فلز بسیاری از جنبه‌های رفتار متابولیسمی یون کلسیم را تقلید می‌کند و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌های کلیدی فعال در مسیرهای متابولیکی مهم جلوگیری به‌عمل می‌آورد (پارسادوست و همکاران، ۱۳۸٦). کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف همگام با افزایش غلظت سرب در محیط اطراف گیاهان گزارش شده است (Lin et al., 2009) که با نتایج تحقیقات ما کاملاً همخوانی دارد. همچنین Kopyra و Gwzdz (۲۰۰۳) نشان دادند که غلظت‌های بالای سرب موجب کاهش جوانه‌زنی در گونه *Lupinus luteus* گردید. براساس نتایج بدست آمده از تحقیق Obidziska و Wierzbicka (۱۹۹۸) وجود سرب در محیط رشد گیاه جوانه‌زنی بذر را به واسطه کاهش جذب آب توسط دانه کاهش نداد، چرا که پوشش دانه در مرحله اول جذب آب، زمانی که جذب آب تقریباً شدید است نسبت به سرب نفوذ ناپذیر بوده ولی در مراحل پایانی جذب آب توسط دانه وقتی که جذب آب کاهش می‌یابد، پوشش دانه به سرب نفوذپذیرتر می‌شود و سربی را که در مرحله پایانی جذب آب توسط دانه به داخل جنین نفوذ می‌کند، جوانه‌زنی را به تأخیر می‌اندازد. بالا بودن مقدار درصد و سرعت جوانه‌زنی در حضور غلظت ۱ میلی‌مولار سرب در رویشگاه ملک آباد و یا در حضور غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در رویشگاه زنجان نسبت به شاهد و کاهش مجدد درصد و سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت سرب می‌تواند نشان دهنده این مطلب باشد که افزایش غلظت سرب در محیط جوانه‌زنی بذرهای سماق تا یک حد معین (غلظت ۱ میلی‌مولار برای رویشگاه ملک آباد و غلظت ۰/۵ برای معدن زنجان) می‌تواند با تاثیر بر خواص فیزیکوشیمیایی خاک و برهم کنش یونها و مکانیزم‌های جذب و انتقال آنها تاثیر معنی‌دار مثبتی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی داشته باشد لکن با افزایش غلظت یون‌های سرب آثار سمیت یونها روی فرآیند جوانه‌زنی نمایان می‌شود کاهش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی درغلظت‌های بالاتر نشان دهنده اثر منفی غلظت‌های بالای سرب روی سیستم‌های آنزیمی دخیل در فرآیند جوانه‌زنی می‌باشد. تفاوت در واکنش پارامترهای رشد و نموی گیاهچه‌های حاصل از ۲ رویشگاه فوق الذکر به حضور غلظت‌های مختلف سرب می‌تواند به علت تفاوت در تواناهایی ژنتیکی آنها در جهت مقابله با شرایط تنش ناشی از حضور عنصر سرب باشد به نحوی که گیاهچه‌های مربوط به رویشگاه ملک آباد به‌عنوان اکوتیپ‌های مقاوم‌تر توانسته‌اند تا مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی لازم را در جهت مقابله با تنش فلز سنگین سرب تا حدودی کسب نمایند و در نهایت پارامترهای رشد و نموی خود را به میزان کمتری کاهش دهند. واکنش متفاوت گیاهان در پاسخ به حضور فلزات سنگین می‌تواند به علت بکارگیری مکانیسم‌هایی از قبیل اجتناب از جذب فلز و یا تحمل آن در تطابق با محیط باشد. کاهش در میزان پارامترهای رشد و نموی در پاسخ به افزایش غلظت سرب در محیط رشد گیاه دلایل متعددی از قبیل اثر بازدارنده سرب روی فتوسنتز، کاهش در توانایی تثبیت دی اکسید کربن، افزایش در هزینه متابولیکی گیاه در مقابله با تنش فلز سنگین، برهم زدن تعادل یونی و روابط آبی گیاه با محیط و

Archive of SID

www.SID.ir

کاهش در میزان تبادلات گازی به علت کاهش سطح برگ دارد Garnczaska و Ratajczak (۲۰۰۰) نشان داده اند که سرب باعث کاهش طول ریشه و تولید زیست توده شده در عدسک آبی و از طرفی از سنتز کلروفیل جلوگیری کرده است همچنین Shaw (۱۹۸۹) گزارش کرده است که در گیاهان معمولاً آثار سمیت با سرب در غلظت‌های بالاتر در برگ ظاهر می‌شود و در نهایت باعث کاهش سنتز کلروفیل و رشد رویشی می‌گردد که نتایج بدست آمده از تحقیق ما را تایید می‌نماید. کاهش سنتز کلروفیل در حضور فلزات سنگین می‌تواند بعلت جایگزین شدن این فلزات با یون منیزیوم در ساختار کلروفیل باشد که این جایگزینی باعث کاهش عملکرد فوتوسنتزی گیاه شده است (Kupper et al., 1996) بالا بودن وزن خشک گیاهچه‌های سماق در حضور غلظت بالاتر سرب رویشگاه زنجان نشان داد که این گیاهچه‌ها توانسته اند مقدار زیست توده بیشتری را تولید کنند که این موضوع می‌تواند به سازگاری و توانایی تطبیق گیاهچه‌ها با شرایط تنش در قیاس با غلظت‌های کمتر باشد هرچند میزان زیست توده در این غلظت‌ها نسبت به شاهد به میزان معنی‌داری کمتر بود. لکن در مقایسه با غلظت‌های حدوسط زیست توده بیشتری تولید کردند البته این توانایی و اثر متقابل مثبت در رویشگاه زنجان مشاهده شد و افزایش غلظت در رویشگاه ملک‌آباد به صورت معنی‌دار میزان وزن خشک را کاهش داد. به طوری که کمترین میزان وزن خشک در تیمارهای C5hab1 و C6hab1 (غلظت‌های ۱ و۲ میلی مولار در رویشگاه ملک آباد) مشاهده گردید. Brunet و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کرده‌اند که روزنه‌های برگ گیاه خلر در حضور سرب بسته شدند و این مساله باعث لطمه دیدن فرآیند تثبیت کربن و کاهش تولید زیست توده گردید که با نتایج ما همخوانی دارد. البته در عین حال می‌توان انتظار داشت که گیاهان در این شرایط، به علت بسته بودن روزنه‌ها می‌توانند محتوی نسبی آب خود را بیشتر حفظ کنند و در نتیجه اندام‌های هوایی و ریشه رشد بیشتری نیز داشته باشند. هوشمندفر و طهرانی (۱۳۸۷) گزارش کردند که با افزایش مقادیر فلزات سرب و روی در خاک غلظت این عناصر در گیاه گلرنگ افزایش پیدا کرد و میزان افزایش غلظت فلزات مذکور در این گیاه از قانون بازده نزولی میچرلیخ پیروی نمود و این مساله ایجاد سمیت و کاهش زیست توده گیاه شد.

همچنین محققین دیگری نظیر Arey و Jagetiya (۱۹۹۷) و Edwards و Asher (۱۹۸۲) نیز کاهش زیست توده گیاهان را در حضور فلزات سنگین گزارش نموده اند که همگی همسو با نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشند. همچنین محدود شدن فرآیند توسعه برگ در حضور غلظت‌های بالای سرب می‌تواند در ارتباط با کمتر شدن رشد طولی سلول‌ها و کاهش در تعداد تقسیمات آنها باشد که در نهایت منجر به کاهش سطح جذبی نور در برگ و پایین آمدن راندمان تثبیت فوتوسنتزی و کاهش زیست توده نیز می‌گردد (Sharma and Dubey, 2005). البته کاهش در میزان سطح برگ در هر دو رویشگاه از یک الگوی واحد تبعیت نمی کند و رویشگاه زنجان حساسیت بیشتر و در نهایت کاهش بیشتری را در این پارامتر رشد ونموی نشان داده است و این درحالی است که گیاهچه‌های حاصل از بذرهای جمع آوری شده از رویشگاه ملک آباد به علت بکارگیری مکانیزم‌های مقاومت به سرب توانسته اند پارامترهای رشد و نموی خود را در برابر افزایش غلظت سرب به میزان کمتری کاهش دهند. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و انجام تحقیقات تکمیلی نظیر مکانیزم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی دخیل در مقاومت نسبی و زنده مانی گیاهچه‌های سماق در حضور مقادیر نسبتاً بالای سرب می‌توان گیاه سماق را

Archive of SID

www.SID.ir

نیز در ردیف گیاهانی قرار دارد که جهت گیاه پالایی از آلودگی‌های زیست محیطی سرب می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. البته موضوع انباشتن سرب در این گیاه می‌تواند از نظر تغذیه‌ای نیز هشدار دهنده باشد و باعث ورورد این فلز سمی به زنجیره غذایی انسان بشود.

نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق مشخص گردید که در حضور غلظت‌های بالای عنصر سرب سرعت و درصد جوانه‌زنی گیاه سماق به مقدار معنی‌داری کاهش یافت. نوع رویشگاه اثری بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرهای سماق نداشت ولی میزان کاهش پارامترهای رشد و نموی گیاهچه‌ای در دو رویشگاه ملک آباد و زنجان متفاوت بود و گیاهچه‌های حاصل از رویشگاه ملک آباد لرستان مقاومت بیشتری را نشان دادند. پاسخ میزان کلروفیل گیاه به افزایش غلظت سرب متفاوت از سایر پارامترها بود و بین همه غلظت‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. سرب با جایگزین شدن به جای یون منیزیوم، بیوسنتز کلروفیل را کاهش داد و به دنبال آن باعث کاهش جذب نور و کاهش تولید زیست توده گیاه گردید. با توجه با اینکه گیاه سماق به‌عنوان یک گیاه دارویی قلمداد می‌گردد و دارای مصارف تغذیه‌ای نیز می‌باشد لازم است در خصوص مکانیزم‌های مقاومت این گیاه به عنصر سرب تحقیقات بیشتری صورت گیرد تا از ورود این عنصر سمی به زنجیره غذایی انسان جلوگیری شود. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق و با توجه به مقاومت نسبی گیاهچه‌های سماق در حضور غلظت‌های بالای سرب و با مطالعات بیشتر در سایر مراحل تکوینی می‌توان گیاه سماق را جهت گیاه پالایی از آلودگی‌های زیست محیطی سرب مورد استفاده قرار داد.

منابع

احمدیان، ع. امین، م.م. فاضلی، غ. جمالی فر، ح. (۱۳۸٦). مروری بر اثرات ضدمیکروبی میوه سماق (*Rhus coriaria* L.) فصلنامه گیاهان دارویی. جلد ۷. شماره ۲۵. صفحات ۱ تا۹.

پارسادوست، ف. بحرینی نژاد، ب. صفری سنجانی، ع.ا.، و کابلی، م.م. (۱۳۸٦). گیاه پالایی عنصر سرب توسط گیاهان مرتعی و بومی در خاکهای آلوده منطقه ایرانکوه اصفهان. پژوهش و سازندگی. جلد ۷۵ شماره. صفحات ٥٤ تا٦٣.

حق پرست تنها، م.ر. (۱۳۷۱). تغذیه و متابولیسم گیاهان (ترجمه). انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. صفحه۱۹۸.

زرگری، ع. (۱۳۷۱). گیاهان دارویی. چاپ هفتم. انتشارات دانشگاه تهران، جلد چهارم. ٥٧٤ صفحه.

شریعت، آ. و عصاره، م. (۱۳۸٤). تاثیر سطوح مختلف عناصر سنگین برجوانه‌زنی و رشد گیاهچه در سه گونه اکالیپتوس. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. جلد ١٤ شماره ١. صفحات ۳۸۵ تا ٤٠١.

صابری، م.، جعفری، م. و حیدری، م. (۱۳۸۹). تاثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه زنی و رشد گیاهچه‌های *Atriplex lentiformis* مجله علمی پژوهی مرتع، سال چهارم، شماره ۱، صفحات
۱۲۰-۱۱۲.

لاری یزدی، ح.، رنجبر، م. و برومند جزی، ش.ا. (۱۳۹۰). بررسی اثر متقابل سرب و اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعایت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز، محتوی پرولین در بخش هوایی و زیرزمینی گیاه ۱۰ روزه کلزا رقم اکاپی. فصلنامه پژوهش‌های

Archive of SID

www.SID.ir

علوم گیاه، شماره ۲۲، سال ششم، صفحات ۲۹-۲۱.

هوشمندفر، ع. و طهرانی، م. (۱۳۸۷). بررسی پتانسیل استخراج سرب و روی خاک به وسیله گیاه گلرنگ. مجله علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم. جلد ٤ شماره ١٤ صفحات ٧٧ تا ٨٦.

Arey, N.C., Jagetiya, B.L. (1997). Relative toxicity of cadmium, lead and zinc on barley. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 28, 949-960.

Ayas, F.A and Kadioglu, A.C. (1997). Effect of heavymetal (Zn, Cd, Cu, Ni and Mg) on the soluble protein bands of germination *Lens esculent* L. Seeds, Turkish Journal of Botany. 2(21): 85-94.

Brunet, J., Repellin, A., Varrault, G., Terrync, N., zuily-fodi, Y. (2008). Lead accumulation in the root of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) anovel plant for phytoremidiation systems, Comptes Rendus Biologies, 331: 859-864.

Claire, L.C., Adriano, D.C., Sajwan, K.S., Abel, S.I., Thoma, D.P. and Driver, J.T. (1991). Effect of selected trace metals on germination seeds of six species. Water, Air and Soil Pollution, 59: 231-240.

Edwards, D.G., Asher, C.J. (1982). Tolerance of crop and pasture species to manganes toxicity, Plant nutrition colloquium warwick university, England. (ed. Scaife, A.) pp:145-151.

Fernandes, J.C., Henriques, F.S. (1991). Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. Botanical Review, 57:246–273.

Garnczaska, M., Ratajczak, D. (2000). Metabolic responces of *lemna minor* to lead ions, induction of antioxidant enzymes in roots, Acta Physiologiae Plantarum, 22:429-432.

Islam, E., Yang, X., Li, T., Liu, D., Jin, X. (2008). Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*. Journal of Hazardous Materials. 154:914-926.

Kopyra, M., 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.

Kupper, H., Kupper, F., Spiller, M., (1996). Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. Journal of Experimental Botany, 47: 259-266.

Lin, C.J., Liu, L., Liu, T., Zhu, L., Sheng, D., 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.

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.

Malkovski, E., Kita, A., Galas, W., Karez, W., Michael, K. (2002). Lead distribution in corn seedling (*Zea mays L.*) and its effect on growth and concentration of potassium and calcium. Plant Growth Regulation, 37:69-76.

Scott, S.J., Jones, R.A., Williams, W.A. (1984). Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science. 24:1192-1199

Sharma, P., Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. Plant Physiology. 17:35-52.

Shaw, A.J. (1989). Heavy metal tolerance in plants: volutionary aspects"CRC press, INC. Florida. 299 p.

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

Archive of SID

www.SID.ir