تأثیر مس و روی بر ویژگی‌های رشدی، غلظت برخی عناصر معدنی و ظرفیت انتقال عناصر به دمکرده و جوشانده گیاه دارویی بالنگوی شهری(*Lallemantia iberica* F. & C.M) کشت شده در شرایط گلخانه‌ای

حمایت عسگری لجایر[۱]، بابک متشرع‌زاده[۱*]، غلامرضا ثواقبی فیروزآبادی[۱] و جواد هادیان[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۰۱)

چکیده

به منظور بررسی اثر مس و روی بر صفات ریخت‌شناسی گیاه دارویی بالنگوی شهری، غلظت عناصر مس، روی، آهن، منگنز، فسفر و پتاسیم در ریشه و شاخساره و غلظت مس و روی در داخل دمکرده و جوشانده، یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه طراحی و اجرا شد. تیمارها شامل سه سطح مس (صفر، ۵ و ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات مس)، سه سطح روی (صفر، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات روی) و برهمکنش آنها بودند. نتایج نشان داد که اثر مس و روی بر وزن خشک ریشه، کلروفیل (SPAD)، سطح برگ، غلظت پتاسیم و فسفر ریشه و شاخساره و غلظت آهن و منگنز ریشه معنی‌دار شد. همچنین، اثر متقابل آنها بر وزن خشک شاخساره، ارتفاع بوته و غلظت مس و روی ریشه، شاخساره، دمکرده و جوشانده و غلظت آهن و منگنز شاخساره معنی‌دار بود. بیشترین وزن خشک شاخساره (۳/۹۷ گرم در گلدان) و ارتفاع (۵۸/۰۲ سانتی‌متر) در تیمار ترکیبی Cu_5Zn_{10} و کمترین میزان آنها (به ترتیب ۲/۱ گرم و ۳۶/۱۸ سانتی‌متر) در تیمار ترکیبی $Cu_{25}Zn_{50}$ به‌دست آمد. بیشترین غلظت مس، روی، آهن و منگنز ریشه (به ترتیب ۵۸/۸۵، ۳۳۸/۰۶، ۳۷۶۶/۹۱ و ۱۳۵/۹۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار Cu_25Zn_{50} حاصل شد. بیشترین غلظت مس شاخساره، دمکرده و جوشانده (به ترتیب ۲۸/۳۸، ۱/۴۹ و ۴/۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار $Cu_{25}Zn_{10}$ به‌دست آمد. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که برهمکنش منفی بین مس، روی، آهن و منگنز در سطوح بالاتر کاربرد مس و روی اتفاق افتاده است. در این مطالعه، ظرفیت انتقال زیاد مس و روی به داخل دمکرده و جوشانده به اثبات رسید. به‌این دلیل، و نبود استاندارد لازم برای این عناصر در گیاهان دارویی، در صورت کشت آنها در خاک‌های آلوده به عناصر مس و روی باید با احتیاط برای تهیه دمکرده و جوشانده استفاده گردند.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، گیاهان دارویی

مقدمه

پاسخ گیاهان دارویی به عوامل محیطی از جمله عناصر کم‌مصرف، پرمصرف و فلزات سنگین و چگونگی تغییرات متابولیک و فیزیولوژیک از جمله مباحثی است که همواره مدنظر محققین بوده است. گیاهان دارویی به طور پراکنده در محدوده‌های جغرافیایی گسترده یافت شده و جمع‌آوری و دسترسی به آنها از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد. بنابراین، استفاده از رویشگاه‌های طبیعی جوابگوی صنایع داروسازی نخواهد بود و چنین استفاده انبوه از گیاهان به طور حتم موجبات نابودی آنها را فراهم می‌سازد. از این رو، باید نسبت به کشت این گیاهان در

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۲. گروه مهندسی کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی
*: مسئول مکاتبات؛ پست الکترونیکی: moteshare@ut.ac.ir

سطوح زراعی و گلخانه‌ای اقدام نمود (۵). در بین گیاهان دارویی، گونه‌های موجود در خانواده نعناع به سبب انعطاف بسیار زیاد اکولوژیک آنها به اقالیم متنوع، مصارف تغذیه‌ای- دارویی و به‌واسطه وجود ترکیبات معطر قابل کاربرد در صنایع آرایشی و بهداشتی از اهمیت زیادی برخوردارند (۱).

بالنگوی شهری (*Lallemantia iberica* F. & C.M) که به خانواده نعناع تعلق دارد، گیاهی است تقریباً بدون کرک، به ارتفاع ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، برگ‌های متقابل و دندانه‌دار و گل‌های آبی رنگ و به ندرت مایل به زرد روشن دارد (۶). در فلور ایران، پنج گونه از این گیاه گزارش شده که یکی از آنها *Lallemantia iberica* است (۴۵). این گیاه به حالت وحشی در نواحی مختلف البرز، نواحی شمالی ایران، تهران، قزوین، آذربایجان، اردبیل، لرستان، کرمانشاه و برخی نقاط دیگر ایران پراکنده است و در خراسان شمالی در سطح وسیع کشت می‌شود (۴۲). این گیاه به شکل‌های مختلفی از جمله برگ، بذر، روغن، موسیلاژ، اسانس، دمکرده و جوشانده استفاده می‌شود (۲۶ و ۵۲).

مس و روی از عناصر کم‌مصرف ضروری هستند که به صورت کاتیون دو ظرفیتی جذب گیاهان می‌شوند و در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی، زیستی، متابولیک و آنزیمی سلول‌های گیاهی نقش دارند. تحقیقات نشان داده که تغذیه بهینه عناصر کم‌مصرف نقش مهمی در تشکیل ترکیبات شیمیایی فعال موجود در گیاهان دارویی دارد (۵۵). عناصر کم‌مصرف همراه با ترکیبات آلی (اسانس‌ها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها و دیگر اجزای فعال) مسئول خواص دارویی گیاهان دارویی و بسیاری از عصاره‌های گیاهی مانند عصاره آبی گیاهان دارویی در درمان بیماری‌ها می‌باشند (۵۰ و ۵۵). در واقع، دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی خود نوعی عصاره آبی هستند. سازمان بهداشت جهانی برای عناصر مس و روی در گیاهان دارویی و محصولات فرآوری شده از آنها مانند عصاره‌های گیاهی محدودیت خاصی اعمال نکرده است (۴۶). محدوده طبیعی مس و روی در بخش سبزینه‌ای گیاهان به ترتیب ۵ تا ۲۰ و ۱-۴۰۰ میکروگرم در گرم ماده خشک گیاهی می‌باشد (۱۳). به نظر می‌رسد که، غلظت‌های بیشتر از حد کفایت مس و روی در بافت‌های گیاهی به عنوان یک فلز سنگین علاوه بر به خطر انداختن سلامت انسان و موجودات استفاده کننده از این گیاهان، از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القای تنش اکسیداتیو می‌توانند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت در گیاه گردند (۷ و ۵۱). مقدار عناصر کم‌مصرف و فلزات سنگین در گیاهان و عصاره‌های آنها به ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی خاک و توانایی گیاه برای تجمع عناصر بستگی دارد (۱۰ و ۴۳). پاند و همکاران (۴۹) در تحقیقی، اثر سطوح مختلف روی (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم روی) و آهن (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم آهن) را بر رشد و عملکرد گیاه دارویی نعناع بررسی و گزارش کردند که بیشترین مقدار کلروفیل و وزن تر در تیمار آهن ۱۰ و روی ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌دست آمد و سطح بهینه آهن و روی به ترتیب ۱۰ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش گردید. بر اساس گزارش کواچیک و همکاران (۳۶) با افزایش ۱۲۰ میکرومولار مس، وزن خشک، مقدار کلروفیل، آب و نیتروژن در ریشه و اندام هوایی گیاه دارویی بابونه کاهش یافت. این محققین همچنین در پژوهش دیگری گزارش کردند که گیاه دارویی بابونه بیش‌اندوز فلزات سنگین نیست، ولی به تنش ناشی از فلزات سنگین مقاوم است (۳۷). ازکان و همکاران (۴۳) مقادیر عناصر معدنی را در دمکرده و جوشانده بعضی گیاهان دارویی در زمان‌های مختلف بررسی و گزارش کردند که غلظت فلزات سنگین در دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی کم بود و این به کم بودن غلظت فلزات در گیاه نسبت داده شد.

با توجه به اینکه این گیاه دارویی به‌واسطه داشتن موسیلاژ از جمله گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی است و سطح زیر کشت آن در کشور در حال افزایش می‌باشد (۴)، لذا این تحقیق به منظور بررسی امکان کشت این گیاه در شرایط گلخانه‌ای در خاک‌های کشاورزی دارای آلودگی مس و روی، تأثیر این عناصر بر خصوصیات ریخت‌شناسی و میزان تجمع عناصر ضروری از جمله کم‌مصرف و پرمصرف در قسمت‌های مختلف این گیاه دارویی و میزان انتقال این عناصر به دمکرده و جوشانده انجام گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر مس و روی بر صفات ریخت‌شناسی، میزان غلظت مس، روی، آهن، منگنز، فسفر، پتاسیم ریشه و شاخساره و ظرفیت انتقال مس و روی به دمکرده و جوشانده گیاه دارویی بالنگوی شهری، آزمایشی در شرایط گلخانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در گلخانه گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران در یک خاک آهکی طراحی و اجرا گردید. تیمارهای آزمایش، سطوح مختلف مس از منبع سولفات مس ($CuSO_4.5H_2O$) شامل تیمارهای شاهد یا کمبود مس (صفر)، کفایت مس (۵ میلی‌گرم مس در کیلوگرم خاک) و زیادبود مس (۲۵ میلی‌گرم مس در کیلوگرم خاک) و سه سطح روی از منبع سولفات روی ($ZnSO_4.2H_2O$) شامل تیمارهای شاهد یا کمبود روی (صفر)، کفایت روی (۱۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک) و زیادبود روی (۵۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک) و برهمکنش آنها بودند. حد بحرانی مس و روی قابل عصاره‌گیری با DTPA در خاک‌های آهکی حدود یک میلی‌گرم در کیلوگرم خاک گزارش شده است (۸). همچنین، حداکثر مجاز مس و روی کل در خاک‌های کشاورزی به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک می‌باشد (۳۱). لذا، در این پژوهش، با عنایت به سبک بودن بافت خاک، تیمارها طوری انتخاب گردیدند که مقدار قابل جذب این فلزات پس از دوره انکوباسیون در محدوده بیشینه مقدار مجاز قرار گیرد و تنش اندکی به گیاهان وارد شده باشد. جهت انجام این پژوهش، نمونه خاک مورد نظر می‌بایست از نظر مس و روی در حد پایینی باشد. لذا از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری مناطق مختلف نمونه‌های خاک جمع‌آوری و پس از تجزیه آنها خاک مورد نظر انتخاب و برای انجام آزمایش به گلخانه آورده شد و پس از هواخشک کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، بعضی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن از جمله بافت به روش هیدرومتری (۱۸)، رطوبت گنجایش زراعی با صفحه فشاری (۴۷)، pH وEC در عصاره اشباع (۳۰)، CEC خاک به روش باور (۴۷)، درصد کربن آلی به روش والکی- بلک (۵۷)، درصد آهک به روش حجم‌سنجی (۲۹)، نیتروژن کل خاک به روش هضم کلدال (۱۹)، فسفر قابل استخراج با بی‌کربنات سدیم ۰/۵ مولار به روش اولسن (۵۳)، پتاسیم قابل جذب به روش استخراج با استات آمونیوم نرمال (۵۳)، واکنش خاک (پ- هاش) در گل اشباع به‌وسیله الکترود شیشه‌ای (۵۴) و غلظت عناصر کم‌مصرف کاتیونی مثل روی، مس، آهن و منگنز با عصاره گیر DTPA (۵۳) تعیین گردید (جدول ۱).

برای کشت گلخانه‌ای، خاک تهیه شده ابتدا از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شد. در این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی ۴ کیلوگرمی (گلدان‌ها از جنس پلی‌اتیلن و وزن خالی هر گلدان ۱۰±۲۸۰ گرم با قطر ۱۵/۵ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر) استفاده گردید. 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 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 گلدان‌ها و رساندن رطوبت آنها به حد FC ۰/۷، به منظور حصول تعادل عناصر مس و روی با خاک گلدان‌ها، به مدت ۲ ماه 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 (۳۸). برای جلوگیری از کمبود احتمالی سایر عناصر غذایی، قبل از کشت و با توجه به نتایج آزمون خاک، پتاسیم و فسفر بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به ترتیب به مقدار ۷۰ (از منبع سولفات پتاسیم) و ۴ (از منبع سوپرفسفات تریپل) با خاک گلدان‌ها مخلوط گردید. همچنین، عنصر نیتروژن به صورت تقسیط در ۴ قسط و هر قسط ۶۰ میلی‌گرم نیتروژن از منبع اوره همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه گردید. بذر بالنگوی شهری پس از تهیه از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی در خزانه کشت و پس از رسیدن به مرحله سه برگی به تعداد ۴ عدد گیاهچه یکنواخت در هر گلدان کشت شد.

جدول ۱. نتایج تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای قبل از اضافه کردن مس و روی

ویژگی خاک	مقدار	ویژگی خاک	مقدار
رس (٪)	۱۷/۴۶	Mg^{2+} (meq/L)	۲/۶
سیلت (٪)	۱۸/۰۰	CEC ($cmol_c/kg$)	۱۰/۷۷
شن (٪)	۶۴/۵۶	نیتروژن کل (٪)	۰/۰۴۴
بافت خاک	لوم شنی	فسفر قابل جذب (mg/kg)	۸/۷۹
pH	۷/۴	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	۱۸۰
EC (dS/m)	۱/۲۸	Fe^{*} (mg/kg)	۱۲/۳
$CaCO_3$ (٪)	۶/۷۷	Mn^{*} (mg/kg)	۹/۳۲
کربن آلی (٪)	۰/۶۳	Cu^{*} (mg/kg)	۰/۶۳
درصد اشباع	۲۹/۱	Zn^{*} (mg/kg)	۰/۷۱
Na^{+} محلول (meq/L)	۲/۴۶	HCO_3^{-1} (meq/L)	۴/۱
Ca^{2+} (meq/L)	۸/۴	Cl^{-1} (meq/L)	۳/۸

*DTPA-Extractable

آبیاری گلدان‌ها تا پایان آزمایش به‌وسیله آب مقطر تا رسیدن به دامنه ۰/۷ تا ۰/۸ گنجایش زراعی به روش وزنی صورت گرفت. گلدان‌ها هر هفته به طور تصادفی جابجا شدند. نود روز پس از کاشت و رسیدن به مرحله گل‌دهی کامل، شاخص میزان کلروفیل برگ با کلروفیل‌متر دستی SPAD-502اندازه‌گیری و عدد کلروفیل‌متر یادداشت گردید. سپس، شاخساره بالنگوی شهری در هر گلدان از نزدیک سطح خاک قطع گردید. بدین صورت شاخساره و ریشه‌ها از هم جدا شدند. سپس، 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 تهیه دمکرده و جوشانده در سایه و دمای محیط خشک شدند. نصف دیگر شاخساره نیز پس از ثبت وزن تر و اندازه‌گیری سطح برگ توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf Area meter, model CI-202) با آب مقطر شستشو داده شد و همراه ریشه‌ها هوا خشک گردید. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در پاکت کاغذی مخصوص در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس تا ثابت شدن وزن آنها خشک گردیده و پس از توزین جهت تجزیه شیمیایی پودر شدند. تهیه عصاره به منظور اندازه‌گیری غلظت عناصر مس، روی، آهن و منگنز در ریشه و شاخساره گیاه دارویی بالنگوی شهری با استفاده از روش اکسیداسیون خشک و ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک یک نرمال انجام شد. برای تهیه دمکرده، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوش به یک گرم از شاخسار خشک شده اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه آماده سازی گردید. بعد از ۱۰ دقیقه، محلول حاصل صاف گردید. برای تهیه جوشانده نیز یک گرم شاخسار خشک شده به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش اضافه گردید و بعد از ۱۰ دقیقه جوشیدن محلول حاصل صاف گردید (۴۳). به طور خلاصه، جهت اندازه‌گیری مقدار عناصر در داخل دمکرده و جوشانده نیز ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره دمکرده و جوشانده گیاه با استفاده از پیپت مدرج حباب‌دار برداشت شده و داخل کروزه ریخته شد. این نمونه‌ها تا متوقف شدن بخارات در روی گرم‌کن حرارت داده شد. سپس، کروزه به مدت چهار ساعت در دمای ۴۰۰ درجه سلسیوس در کوره قرار داده شد. پس از خارج کردن کروزه از کوره و سرد شدن آن، ۲ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه شد و تا تبخیر شدن اسید روی

گرم‌کن حرارت داده شد. سپس، نمونه‌ها به مدت یک ساعت دوباره در کوره قرار داده شد و پس از سرد شدن ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲۰٪ اضافه شده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ در داخل یک بالن ۱۰ میلی‌لیتری صاف شده و به حجم رسانده شد (۵۸ و ۵۹). در این عصاره‌ها، عناصر روی، مس، آهن و منگنز با استفاده از دستگاه طیف سنج جذب اتمی مدل Shimadzu-AA6400 اندازه‌گیری گردید. فسفر به روش مولیبدات- وانادات (روش زرد) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu U 73100 و پتاسیم به روش شعله‌سنجی توسط دستگاه فلیم‌فتومتر Corning Flame Photometer 410 تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن (در سطح ۱٪) صورت گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

وزن خشک ریشه و شاخساره

نتایج داده‌های تجزیه واریانس (جداول ۲ و ۳) نشان داد که اثر کاربرد مس و روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه و برهمکنش آنها فقط بر وزن خشک شاخسار معنی‌دار بود. بیشترین وزن خشک شاخساره و ریشه از ترکیب تیمار روی ۱۰ و مس ۵ (Cu_5Zn_{10}) به‌دست آمد؛ هرچند که اختلاف معنی‌داری با برخی از تیمارهای دیگر نداشت. کمترین وزن خشک شاخساره و ریشه هم مربوط به ترکیب بیشترین سطوح مس و روی ($Cu_{25}Zn_{50}$) بود؛ هرچند که اختلاف معنی‌داری با برخی از تیمارهای دیگر نداشت (جدول ۴). کاربرد سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) وزن خشک شاخساره را ۲۵/۸۷ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. ولی بین تیمار شاهد و تیمار Cu_5Zn_0 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، کاربرد همین سطوح مس و روی سبب افزایش معنی‌دار در وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد نگردید. اثر مثبت مس و روی بر افزایش وزن خشک شاخساره و ریشه گیاهان مختلف توسط بسیاری از پژوهشگران گزارش گردیده است (۱۴، ۳۶، ۴۱ و ۴۹). اما بر اساس بررسی‌های مرجع‌شناختی، هیچگونه پژوهشی در مورد بررسی تأثیر مس و روی بر گیاه دارویی بالنگوی شهری در دسترس نیست و پژوهش حاضر برای اولین بار گزارش می‌گردد.

در رابطه با تأثیر مثبت مس و روی در سطوح کم کاربرد بر وزن خشک شاخساره و ریشه می‌توان بیان نمود که با توجه به غلظت کم این عناصر در خاک مورد مطالعه، کاربرد این سطوح به‌دلیل فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز رشد (۲)، فراهم آوردن تعادل تغذیه‌ای و اثرهای مثبت این عناصر بر جذب و انتقال سایر عناصر غذایی کم‌مصرف و پرمصرف (۱۱، ۱۶ و ۴۹)، افزایش مساحت، طول و قطر ریشه (۴۱) و افزایش فتوسنتز و تنفس (۱۰ و ۵۱)، فعال‌سازی آنزیم‌های دخیل در متابولیسم گیاه (۳۸) باعث افزایش وزن خشک ریشه و شاخساره می‌گردد. کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد، سبب کاهش وزن خشک شاخساره و ریشه گردید. هرچند این کاهش فقط بین تیمار $Cu_{25}Zn_0$ با شاهد در مورد وزن خشک شاخساره معنی‌دار بود؛ به طوری که وزن خشک شاخساره کاهش ۱۴/۹۸ درصدی نسبت به شاهد داشت. در این رابطه می‌توان اظهار نمود که مس و روی به رغم نقش حیاتی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیک گیاه، تجمع زیاد این فلزات در گیاه از طریق اختلال در عملکرد طبیعی سلول‌های گیاه (۳۶)، مهار فرآیند تنفس و واکنش‌های انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول (۵)، تحریک تولید رادیکال‌های آزاد، افزایش پراکسیداسیون لیپید، آسیب به غشای سلول‌ها، افزایش تراوایی غشای سلولی (۲۱ و ۳۶)، بدین ترتیب نشت الکترولیتی غشای سلولی اتفاق و در نهایت کاهش آب در دسترس گیاه و کلروفیل و فعالیت‌های فتوسنتز (۱۱، ۲۰ و ۴۹) باعث کاهش رشد ریشه و شاخساره می‌گردد.

ارتفاع بوته، کلروفیل و سطح برگ

با توجه به داده‌های تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر مس بر هر سه خصوصیت ارتفاع بوته، کلروفیل و سطح برگ معنی‌دار بود. همچنین، اثر روی بر ارتفاع و سطح برگ معنی‌دار گردید. ولی اثر برهمکنش این عناصر فقط بر ارتفاع بوته معنی‌دار شد. بیشترین ارتفاع بوته (۵۸/۰۲ سانتی‌متر)، کلروفیل (۴۰/۹۸) و سطح برگ (۶۷۵/۳۴ سانتی‌متر مربع) (جدول ۴) مربوط به تیمار Cu_5Zn_{10} و کمترین آنها به ترتیب به میزان ۳۶/۳۳، ۳۶/۱۸ و ۵۲۹/۹۸ مربوط به تیمار $Cu_{25}Zn_{50}$ بود؛ هرچند که اختلاف معنی‌داری با برخی از تیمارهای دیگر نداشت. ارتفاع بوته، کلروفیل و سطح برگ افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. هرچند این افزایش فقط در مورد ارتفاع به میزان ۱۹/۵۸ درصد و آن هم در تیمار Cu_0Zn_{10} معنی‌دار بود.

کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد به کاهش در هر سه خصوصیت ارتفاع، کلروفیل و سطح برگ منجر گردید. ولی کاهش هر سه خصوصیت نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. در رابطه با تأثیر مثبت مس و روی به عنوان عناصر کم‌مصرف بر ارتفاع بوته، کلروفیل وسطح برگ گیاه بالنگوی شهری می‌توان بیان نمود که غلظت اولیه این عناصر در خاک استفاده شده برای کشت، زیر حد بحرانی توصیه شده برای سبزی‌ها در خاک‌های آهکی می‌باشد (۸) و با توجه به سبک بودن بافت خاک، عمل تثبیت این عناصر غذایی بعد از کاربرد در خاک کمتر اتفاق افتاده است. در نتیجه، گیاه توانسته از عناصر مس و روی به کار برده شده استفاده کند و فرآیندهای فیزیولوژیک مانند فتوسنتز، تنفس، تولید هورمون‌های رشد، سنتز ATP و جذب فعال عناصر را افزایش دهد و به تبع آن ارتفاع، کلروفیل و سطح برگ گیاه نیز افزایش خواهد یافت. بنابراین، از اینجا اهمیت کاربرد عناصر ریزمغذی مس و روی در کشت و کار گیاه دارویی بالنگوی شهری مشخص می‌گردد. نتایج این تحقیق با یافته‌های آپادهیایا و همکاران (۵۶) و کی و همکاران (۳۳) مطابقت دارد.

در رابطه با اثر منفی این عناصر در سطوح زیاد نیز باید عنوان کرد که این عناصر در سطوح زیاد به عنوان یک فلز سنگین سمی شناخته می‌شوند. در گزارش‌های متعدد، اثرهای منفی سطوح زیاد این عناصر بر گیاهان مختلف بررسی و گزارش گردیده است (۳۶ و ۴۰). با توجه به اینکه گیاه دارویی بالنگوی شهری هیچ علائم ظاهری ناشی از تنش این فلزات نشان نداد و کاهش مشاهده شده در غلظت‌های زیاد این عناصر نسبتاً اندک و غیرمعنی‌دار است، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه دارویی بالنگوی شهری نسبت به این سطوح مس و روی مقاوم می‌باشد و حدود مس و روی استفاده شده کمتر از حد آستانه مسمومیت این گیاه دارویی است. ولی در مورد این کاهش جزئی می‌توان اظهار نمود که در غلظت‌های زیاد این عناصر به عنوان یک فلز سنگین، غلظت کلروفیل به علت ممانعت از بیوسنتز کلروفیل، جایگزینی منیزیم موجود در ساختمان کلروفیل، کاهش کارتنوئیدها به عنوان محافظ کلروفیل، تغییر مسیر متابولیسمی به سمت تولید پرولین تحت تنش فلزات سنگین با توجه به داشتن پیش‌ساز مشترک کلروفیل و پرولین باعث کاهش کلروفیل و فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه و کاهش رشد خواهد شد.

غلظت پتاسیم و فسفر ریشه و شاخساره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۲ و ۳) نشان می‌دهد که اثر مس بر هر چهار خصوصیت غلظت پتاسیم ریشه، غلظت پتاسیم شاخساره، غلظت فسفر ریشه و غلظت فسفر شاخساره معنی‌دار گردید. همچنین، اثر روی بر غلظت پتاسیم شاخساره، غلظت فسفر ریشه و شاخساره معنی‌دار گردید. ولی اثر برهمکنش این عناصر بر هیچ‌کدام از این چهار خصوصیت معنی‌دار نگردید.

بیشترین غلظت پتاسیم ریشه (۱/۵۳ درصد) و شاخساره (۳/۵۲ درصد) به ترتیب مربوط به تیمارهای Cu_5Zn_{50} و Cu_5Zn_{10} و کمترین آنها به ترتیب به میزان ۰/۶۶ و ۲/۴۱ درصد مربوط به تیمارهای $Cu_{25}Zn_0$ و $Cu_{25}Zn_{50}$ بود. هر

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و روی بر صفات ریخت شناسی، غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره و غلظت مس و روی جوشانده و دمکرده گیاه بالنگوی شهری

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه	ارتفاع بوته	کلروفیل (SPAD)	سطح برگ	غلظت پتاسیم ریشه	غلظت پتاسیم شاخساره	غلظت مس دمکرده	غلظت مس جوشانده	غلظت روی دمکرده	غلظت روی جوشانده
مس	۲	۲/۳۲**	۰/۰۴۳**	۳۴۳/۲۵**	۲۰/۶۲**	۱۴۲۲۰/۸۲**	۲۰/۶۲**	۱۴۲۲۰/۸۲**	۱/۷۴**	۲۸/۰۷**	۱۳/۱**	۲۹/۷۰**
روی	۲	۱/۳۷**	۰/۰۲۶**	۲۰۴/۴۶**	۸/۱۹ ^{ns}	۶۳۷۶/۸۹**	۸/۱۹ ^{ns}	۶۳۷۶/۸۹**	۰/۱۲**	۰/۸۴**	۴۹/۲**	۱۹۳/۵۳**
مس × روی	۴	۰/۲۴*	۰/۰۰۳^{ns}	۴۶/۱۱**	۲/۴۵ ^{ns}	۱۴۶۳/۰۴ ^{ns}	۲/۴۵ ^{ns}	۱۴۶۳/۰۴ ^{ns}	۰/۰۳**	۰/۴۱**	۱/۴۹**	۶/۵۰**
خطا	۱۸	۰/۰۵	۰/۰۰۳	۸/۸۵	۲/۴۵	۱۰۱۴/۸۲	۲/۴۵	۱۰۱۴/۸۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۱۷	۰/۵۰
ضریب تغییرات		۸/۰۳	۹/۱۸	۶/۵۹	۴/۰۹	۵/۳۲	۴/۰۹	۵/۳۲	۵/۱۷	۳/۹۰	۵/۱۰	۵/۹۲

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و روی بر غلظت مس، روی، آهن، منگنز و فسفر ریشه و شاخساره گیاه بالنگوی شهری

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		غلظت مس		غلظت روی		غلظت آهن		غلظت منگنز		غلظت فسفر	
		ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره	ریشه	شاخساره
مس	۲	۲۳۱۳/۸۱	۸۲۵/۶۵**	۱۳۳۵۱/۹۲**	۱۱۱۱/۶۰**	۳۳۱۷۷۴/۷۳ **	۱۱۸۶/۱۰**	۴۳۵۱/۵۲**	۴۲۲/۳۱**	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۰۳*
روی	۲	۸۸۸/۱۳**	۵۰/۰۱**	۴۹۰۱۹/۰۷**	۱۱۱۲۷/۲۶**	۷۸۲۴۰۳/۶۱**	۲۲۷۱/۴۰**	۴۷۳۸/۶۶**	۸۹۲/۹۲**	۰/۰۱۴**	۰/۰۰۲**
مس × روی	۴	۲۷/۲۳**	۷/۰۳**	۳۳۷۱/۴۰**	۱۳۰/۱۶*	۹۸۲/۱۹^{ns}	۲۵۵/۸۱**	۲۴/۳۶^{ns}	۸۵/۱۸**	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰^{ns}
خطا	۱۸	۶/۴۶	۰/۶۷	۱۱۶/۶۵	۴۲/۵۶	۳۳۱۳۴/۲۵	۳۸/۹۷	۲۹/۰۴	۵/۷۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات		۸/۷۴	۵/۷۲	۶/۴۸	۷/۴۹	۵/۶۱	۵/۳۵	۴/۳۶	۵/۰۶	۵/۴۸	۷/۰۶

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ و غیر معنی‌دار

چند که اختلاف معنی‌دار با برخی دیگر از تیمارها نداشت. غلظت پتاسیم ریشه نسبت به شاهد، افزایش معنی‌دار و ۲۱/۲۳ درصدی را در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) نشان داد. افزایش در مورد غلظت پتاسیم ریشه در سطوح کم مس (Cu_5Zn_0) و غلظت پتاسیم شاخساره در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) معنی‌دار نبود. کاربرد سطوح بیشتر روی (Cu_0Zn_{50}) در مقایسه با تیمار شاهد باعث افزایش ۳۱/۸۵ درصدی در غلظت پتاسیم ریشه و ۱۲/۱۳ درصدی در غلظت پتاسیم شاخساره گردید، ولی کاربرد سطوح بیشتر مس ($Cu_{25}Zn_0$) به کاهش ۴۱/۵۹ درصدی در غلظت پتاسیم ریشه منجر شد. کاهش مشاهده شده در مورد غلظت پتاسیم شاخساره در سطوح بیشتر مس ($Cu_{25}Zn_0$) معنی‌دار نبود. از نتایج فوق می‌توان نتیجه‌گیری نمود که مس و روی در سطوح کم اثری مثبت بر غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره دارند، ولی غلظت‌های زیاد مس به کاهش غلظت پتاسیم ریشه و شاخساره منجر می‌شود. در این رابطه می‌توان اظهار نمود که مس به واسطه تنوع ظرفیت خود در گیاهان در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا شرکت می‌کند. بنابراین، در غلظت‌های زیاد مس جذب این عنصر توسط ریشه و شاخساره نیز افزایش می‌یابد و باعث تحریک تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS)، افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، آسیب به نفوذپذیری غشای پلاسمایی و نشت یون پتاسیم از سلول های تحت تنش به محیط می‌شود. در حالی که غلظت زیاد روی، به کاهش غلظت پتاسیم در ریشه و شاخساره منجر نشده است. شاید دلیل این امر این باشد که اکسیداسیون خود به خودی در شرایط کمبود روی سبب از بین رفتن ساختمان غشا و ترشح پتاسیم به محیط می‌شود. ولی با اضافه کردن روی، سرعت جریان خروجی ترکیبات محلول با وزن مولکولی کم مانند پتاسیم به صورت سریع کاهش می‌یابد (۳). نتایج این پژوهش با یافته‌های کواچیک و همکاران (۳۶)، اکتاش و همکاران (۹)، کی و همکاران (۳۳) و علی و همکارن (۱۱) نیز مطابقت دارد. الویی سوسه و همکاران (۱۰) گزارش کردند که افزایش مس باعث کاهش پتاسیم ریشه می‌گردد و با توجه به نقش پتاسیم در تنظیم پتانسیل اسمزی، کاهش پتاسیم منجر به کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های برگ و آن هم باعث کاهش گسترش سلول‌های برگ خواهد گردید. کواچیک و همکاران (۳۵) گزارش کرده‌اند که مقدار پتاسیم در محیط رشد گیاه بابونه به دلیل آسیب دیدن یکپارچگی غشای پلاسمایی و نشت پتاسیم به محیط رشد، افزایش می‌یابد.

بیشترین غلظت فسفر ریشه (۰/۲۹۱ درصد) و شاخساره (۰/۱۶۳ درصد) به ترتیب مربوط به تیمارهای $Cu_{25}Zn_{50}$ و Cu_5Zn_0 و کمترین آنها به ترتیب به میزان ۰/۱۶۶ و ۰/۱۲۲ درصد مربوط به تیمارهای شاهد و $Cu_{25}Zn_{50}$ بود؛ هرچند که اختلاف معنی‌دار با برخی از تیمارهای دیگر نداشتند. در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) غلظت فسفر ریشه نسبت به شاهد افزایش داشت؛ ولی این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همچنین، سطح کم روی (Cu_0Zn_{10}) به کاهش معنی‌دار و ۱۲/۴۲ درصدی در غلظت فسفر شاخساره منجر گردید. افزایش ناشی از کاربرد سطح کم مس (Cu_5Zn_0) در غلظت فسفر شاخساره از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. با کاربرد سطوح بیشتر روی (Cu_0Zn_{50}) و ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد، غلظت فسفر ریشه (۴۳/۹۷ و ۱۳/۳۳ درصد) افزایش و غلظت فسفر شاخساره (۲۲/۹۸ و ۶/۲۱ درصد) کاهش یافت. این افزایش یا کاهش فقط در مورد سطوح زیاد مس و آن هم برای غلظت فسفر در شاخساره معنی‌دار نبود. از نتایج فوق می‌توان استنباط نمود که هر دو عنصر مس و روی اثرهای رقابتی بر غلظت فسفر شاخساره گیاه دارویی بالنگوی شهری دارند و این اثر برهمکنش در مورد روی با شدت بیشتری است، به طوری که حتی غلظت کمتر این عنصر (Cu_0Zn_{10}) نیز منجر به کاهش فسفر شاخساره گردیده است. ولی در مورد مس، غلظت کم (Cu_5Zn_0) باعث افزایش غلظت فسفر بخش هوایی، هرچند به صورت غیر معنی‌دار، گردیده است. گزارش‌های متعددی به رابطه رقابتی عناصر مس و روی با فسفر در گیاهان مختلف اشاره کرده‌اند (۱۱، ۱۲، ۳۱ و ۳۳). کاباتا- پندیاس

(۳۱) نیز به رابطه رقابتی مس و روی با فسفر اشاره کرده است. این محقق دلیل رقابت این عناصر با فسفر را جلوگیری از فعالیت آنزیم فسفاتاز، کاهش نفوذپذیری غشای پلاسمایی نسبت به فسفر، رقابت بین روی و فسفر در جذب توسط ریشه و انتقال به شاخساره ذکر نموده‌اند.

غلظت آهن و منگنز ریشه و شاخساره

با توجه به داده‌های تجزیه واریانس (جداول ۲ و ۳)، اثر مس و روی بر غلظت آهن و منگنز ریشه و شاخساره معنی‌دار بود؛ اما برهمکنش مس و روی فقط بر غلظت آهن و منگنز در شاخساره معنی‌دار گردید. بیشترین غلظت آهن و منگنز در ریشه به ترتیب به میزان ۳۷۶۶/۹۱ و ۱۳۵/۹۷ میلی‌گرم در کیلوگرم در تیمار با ترکیب بیشترین سطوح مس و روی ($Cu_{25}Zn_{50}$) و شاخساره به ترتیب به میزان ۱۴۶/۱۶ و ۳۹/۸۹ میلی‌گرم در کیلوگرم مربوط به ترکیب روی ۱۰ و مس ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم (Cu_5Zn_{10}) بود. غلظت آهن ریشه (۵/۸۵ و ۳/۲۲ درصد)، غلظت آهن شاخساره (۱۰/۳۱ و ۵/۷۴ درصد)، غلظت منگنز ریشه (۱۸/۲۷ و ۱۱/۰۳ درصد) و غلظت منگنز شاخساره (۲۰/۳۱ و ۱۳/۱۰ درصد) افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب به افزایش ۲۰/۶۹ و ۱۲/۷۱ درصدی و ۶۱/۱۷ و ۳۸/۵۴ درصدی در غلظت آهن و منگنز ریشه و کاهش ۱۴/۵۵ و ۸/۲۳ درصدی و ۱۱/۸۲ و ۵/۳۳ درصدی در غلظت آهن و منگنز شاخساره منجر گردید. از نتایج ارائه شده می‌توان استنباط نمود که مس و روی با آهن و منگنز در غلظت‌های زیاد رقابت دارند. در تأیید نتایج حاضر، کاهش غلظت آهن و منگنز در شاخساره در غلظت‌های زیاد مس و روی در مطالعات مارشنر (۳۹)، کاباتا- پندیاس (۳۱)، میچارد و همکاران (۴۱) و کی و همکاران (۳۳) نیز گزارش گردیده است. این محققین اکثراً دلیل این رقابت را پروتئین‌های غشایی یکسان برای انتقال این عناصر ذکر کرده‌اند.

غلظت مس ریشه، شاخساره، دمکرده و جوشانده

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۲ و ۳) بیانگر معنی‌دار شدن اثر مس و روی و بر همکنش آنها بر غلظت مس ریشه، شاخساره، دمکرده و جوشانده می‌باشد. بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جداول ۴ و ۵)، بیشترین غلظت مس ریشه (۵۸/۸۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار $Cu_{25}Zn_{50}$ و بیشترین غلظت مس در شاخساره (۲۸/۳۸ میلی‌گرم در کیلوگرم)، دمکرده (۱/۴۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جوشانده (۴/۵۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار $Cu_{25}Zn_{10}$ به‌دست آمد. همچنین، کمترین غلظت مس ریشه (۶/۷۹ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاخساره (۳/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، دمکرده (۰/۳۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جوشانده (۰/۶۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار شاهد (Cu_0Zn_0) مشاهده گردید.

غلظت مس ریشه (۱۱۰/۲۸ و ۱۷۸/۳۵ درصد)، غلظت مس شاخساره (۱۷۲/۴۲ و ۲۲۶/۳۶ درصد)، غلظت مس دمکرده (۳۵/۸۹ و ۴۰/۰۲ درصد) و غلظت مس جوشانده (۲۲/۹۵ و ۳۲/۷۸ درصد) افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح کم روی (Cu_0Zn_10) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. همچنین، کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب سبب افزایش ۲۲۹/۶۰ و ۳۸۸/۵۵ درصدی در غلظت مس ریشه، ۱۱۷/۵۷ و ۶۳۳/۳۳ درصدی در غلظت مس شاخساره، ۱۷/۹۴ و ۲۳۸/۴۶ درصدی در غلظت مس دمکرده ،۴/۹۱ و ۵۳۷/۷۰ درصدی در غلظت مس جوشانده را سبب گردید. با توجه به این نتایج می‌توان بیان نمود که در هر دو سطح مس استفاده شده، غلظت این عنصر در شاخساره افزایش یافته است. شاید بتوان دلیل این امر را بافت سبک خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای و تثبیت کمتر این عنصر در خاک و به تبع آن جذب و انتقال این عنصر به شاخساره عنوان کرد. کاباتا-پندیاس (۳۱) گزارش کرده که محدوده طبیعی مس در گیاهان ۵-۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک شاخساره می‌باشد و در غلظت کمتر از ۵ و بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، به ترتیب ظهور علائم کمبود و زیادبود

محتمل خواهد بود؛ ولی در این گیاه با توجه با اینکه در تیمار شاهد غلظت مس شاخساره ۳/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم بود هیچگونه علائم کمبودی مشاهده نگردید. با توجه به اینکه غلظت مس اولیه در خاک کمتر از حد بحرانی این عنصر برای خاک‌های آهکی بود، پس بروز علائم کمبود هم دور از انتظار نبود. ولی شاید بتوان عدم بروز علائم کمبود در تیمار شاهد را در این پژوهش، کم بودن غلظت بحرانی کمبود مس (کمتر از ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) برای این گیاه دانست و نیاز است در مطالعات تکمیلی به تعیین حد بحرانی این عناصر برای این گیاه اقدام گردد. همچنین بیشترین غلظت مس شاخساره به‌دست آمده در این آزمایش بیشتر از محدوده طبیعی گزارش شده بوسیله کاباتا پندیاس (۳۱) می‌باشد. ولی هیچ علائم ظاهری ناشی از زیادبود مس در این گیاه مشاهده نشد. غلظت مس در ریشه بیشتر از شاخساره بود، به طوری که می‌توان نتیجه‌گیری نمود که گیاه در غلظت زیاد مس استفاده شده با تجمع مس در ریشه و انتقال کمتر آن به شاخساره با این تنش مقابله نموده است. بنابراین بر اساس این نتایج پیشنهاد می‌شود گیاه دارویی بالنگوی شهری مطابق با تئوری طبقه بندی باکر و همکاران (۱۵) می‌تواند در دسته گیاهان تحمل کننده با استراتژی اجتناب یا منع کنندگی (Excluder) قرار گیرد.

همچنین، بر اساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه مشخص شد که روی در هر دو غلظت به کار برده شده اثر افزایشی بر غلظت مس شاخساره داشته است، به طوری که در سطح بالاتر (Cu_0Zn_{50}) این اثر افزایشی نسبت به سطح کمتر روی به کار برده شده (Cu_0Zn_{10}) کمتر بوده ولی در هر دو سطح نسبت به شاهد اثر افزایشی داشته است. گزارش‌های متعددی مبنی بر برهمکنش این عناصر در گیاهان مختلف وجود دارد (۱۶، ۳۴ و ۳۹). نکته جالب توجه در آزمایش حاضر این بود که حتی در غلظت زیاد روی مورد استفاده، غلظت مس شاخساره افزایش یافت. بر خلاف نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، اکثر محققین بر این عقیده هستند که روی و مس دارای اثر رقابتی بوده، لذا روی موجب کاهش غلظت مس در شاخساره خواهد گردید.

در رابطه با غلظت مس در دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی باید اظهار نمود که غلظت این عنصر در جوشانده نسبت به دمکرده بیشتر بود. همچنین، با افزایش مقدار انباشت مس در بخش هوایی، غلظت این عنصر در داخل دمکرده و جوشانده نیز افزایش یافت. با توجه به اینکه دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌های آماده شده در سراسر جهان است (۲۷)، آگاهی از مقدار عناصر در مواد خام، دمکرده و جوشانده‌های گیاهی بسیار مهم می‌باشد. زیرا مقادیر عناصر در گیاهان و دمکرده و جوشانده‌های گیاهی با بهداشت و سلامت عمومی ارتباط نزدیکی دارد (۵۰). چندین مطالعه، میزان عناصر غذایی و فلزات سنگین را در دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی به منظور بررسی امکان استفاده از آنها به عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای و از نقطه نظر سلامتی انسان بررسی کرده‌اند. ازکان و همکاران (۴۳) مقادیر عناصر معدنی را در دمکرده و جوشانده بعضی گیاهان دارویی در زمان‌های مختلف بررسی و گزارش کردند که غلظت فلزات سنگین در دمکرده و جوشانده گیاهان دارویی مختلف متفاوت و کم بود. همچنین، تهیه دمکرده و جوشانده در مدت زمان ۱۰ دقیقه مناسب‌ترین زمان برای غنی بودن عصاره حاصل از عناصر معدنی بود. کوستا و همکاران (۲۴) گزارش کردند که مقدار مواد معدنی در دمکرده به بازده استخراج عناصر تحت شرایط دم کردنی، غلظت عناصر در برگ‌های گیاه، نوع فلز و روش تهیه دمکرده بستگی دارد. محققین همچنین عناصر را از نظر بازده استخراج یا آزاد شدن (غلظت عناصر در دمکرده به غلظت کل عناصر در برگ‌های گیاهان) هر عنصر در دمکرده گیاهان به سه گروه تقسیم‌بندی نموده‌اند. ناتاسان و همکاران (۴۴) گزارش کردند که عناصر کم‌مصرف مس، روی و منگنز در گروه متوسط استخراج و آهن و کلسیم در گروه ضعیف استخراج قرار داشتند. پیتلاکووسکا و همکاران (۵۰) نیز گزارش کردند که مس و روی در گروه متوسط استخراج و آهن و منگنز در گروه ضعیف استخراج قرار دارند و این تفاوت در بازده استخراج به

تفاوت آنها در ویژگی‌های کووالانسی، رفتارهای شیمیایی و بیولوژیک متفاوت در برگ‌های گیاه و قابلیت حلالیت متفاوت این عناصر برمی‌گردد. به هر حال، با توجه به نبود استاندارد لازم برای فلزات مس و روی در گیاهان دارویی و دمکرده و جوشانده این گیاهان، امکان به خطر افتادن سلامت و ایمنی مصرف‌کنندگان وجود دارد. لذا، حتی‌الامکان مواد گیاهی برای تهیه عصاره‌های آبی گیاهی مانند جوشانده و دمکرده باید از محیط‌های عاری از هر گونه آلودگی محیطی، از جمله فلزات سنگین، برداشت شوند.

غلظت روی ریشه، شاخساره، دمکرده و جوشانده

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جداول ۲ و ۳) نشان می‌دهد که اثر مس و روی و برهمکنش آنها بر غلظت روی ریشه و شاخساره، دمکرده و جوشانده معنی‌دار بوده است. بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جداول ۴ و ۵)، بیشترین غلظت روی ریشه (۳۳۸/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار $Cu_{25}Zn_{50}$ و بیشترین غلظت شاخساره (۱۴۱/۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، دمکرده (۱۲/۵۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جوشانده (۲۰/۳۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار Cu_5Zn_{50} به‌دست آمد. همچنین، کمترین غلظت روی ریشه (۹۸/۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم)، شاخساره (۵۹/۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار شاهد (Cu_0Zn_0) و دمکرده (۵/۶۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جوشانده (۷/۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تیمار $Cu_{25}Zn_0$ مشاهده گردید. غلظت روی ریشه (۲۷/۴۱ و ۹/۱۱ درصد)، غلظت روی شاخساره (۲۶/۹۵ و ۱۲/۹۷ درصد)، غلظت روی دمکرده (۱۱/۹۶ و ۳/۵۴ درصد) و غلظت روی جوشانده (۱۶/۵۸ و ۰/۵۸ درصد) افزایش را نسبت به شاهد به ترتیب در سطوح کم روی (Cu_0Zn_{10}) و مس (Cu_5Zn_0) نشان دادند. کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) و مس ($Cu_{25}Zn_0$) در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب سبب افزایش ۹۵/۳۰ و ۴۳/۳۹ درصدی در غلظت روی ریشه گردید. همچنین، در کاربرد سطوح زیاد روی (Cu_0Zn_{50}) افزایش ۱۲۳/۶۶ درصدی در غلظت روی شاخساره، ۵۹/۲۳ درصدی در غلظت روی دمکرده، ۱۰۳/۵۹ درصدی در غلظت روی جوشانده به‌دست آمد. ولی کاربرد سطوح زیاد مس ($Cu_{25}Zn_0$) به کاهش ۱۲/۴۵ درصدی در غلظت روی شاخساره، ۱۶/۹۸ درصدی در غلظت روی دمکرده و ۸/۳۵ درصدی در غلظت روی جوشانده منجر شد.

به نظر می‌رسد که در این آزمایش، با افزایش مصرف خاکی روی به دلیل فراهمی این عنصر در خاک، جذب و انتقال آن به شاخساره گیاه بالنگوی شهری نیز افزایش یافته است. پایووک (۴۸) گزارش کرده که میزان فراهمی روی در خاک به عوامل متعدی از جمله نوع مواد مادری و میزان هوادیدگی آن، واکنش (pH) خاک و ریزوسفر، مقدار ماده آلی خاک، بافت و ظرفیت تبادل کاتیونی و غلظت سایر عناصر غذایی بستگی دارد. لذا، در این پژوهش، با توجه به مقدار مواد آلی و ظرفیت تبادل کاتیونی کمتر و بافت خاک سبک‌تر می‌توان قضاوت نمود که تثبیت این عنصر در خاک کمتر اتفاق افتاده است. در نتیجه، با افزایش فراهمی آن، جذب آن افزایش و به تغلیظ این عنصر در بخش هوایی منجر شده است. مطابق گزارش مارشنر (۳۹)، محدوده طبیعی روی در گیاهان ۲۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاهی می‌باشد. با توجه به اینکه بیشترین غلظت روی شاخساره در این آزمایش ۱۴۱/۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در تیمار Cu_5Zn_{50} به‌دست آمده، لذا این مقدار در محدوده طبیعی برای رشد گیاهان می‌باشد. با توجه به اینکه ایران استاندارد ملی برای عنصر روی در گیاهان دارویی ندارد، لذا مطابق گزارش فائو و سازمان بهداشت جهانی (۲۲) برای سبزی‌ها و اتحادیه اروپا و انگلستان برای مواد غذایی (۲۳) حداکثر سطوح مجازی روی به ترتیب ۹۹/۴ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد. لذا، در این پژوهش، مقدار روی بخش هوایی بیشتر از سطوح مجاز توصیه شده برای مصرف انسان می‌باشد و باید احتیاط لازم در مصرف آنها صورت گیرد.

در رابطه با تأثیر مس بر غلظت روی شاخساره باید بیان داشت که مس در سطوح کم اثر افزایشی و در سطوح زیاد اثر

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر مس و روی بر ویژگی‌های رشدی و غلظت مس و روی در دمکرده و جوشانده گیاه بالنگوی شهری

تیمارها	وزن خشک بخش هوایی (g/pot)	وزن خشک ریشه (g/pot)	ارتفاع بوته (cm)	کلروفیل (SPAD)	سطح برگ (cm^2)	غلظت پتاسیم ریشه (٪)	غلظت پتاسیم شاخساره (٪)	غلظت مس دمکرده (mg/kg)	غلظت مس جوشانده (mg/kg)	غلظت روی دمکرده (mg/kg)	غلظت روی جوشانده (mg/kg)
Cu0Zn0	۲/۸۷b	۰/۷۰abc	۴۵/۰۸cd	۳۸/۳۳ abc	۶۰۰/۶۷bc	۱/۱۳c	۳/۰۵bc	۰/۳۹g	۰/۶۱g	۶/۷۷f	۸/۶۲f
Cu0Zn10	۳/۶۱a	۰/۷۴ab	۵۳/۹۱ab	۴۰/۰۳ab	۶۳۸/۱۶ab	۱/۳۷b	۳/۲۳ab	۰/۵۳ef	۰/۷۵ef	۷/۵۸ de	۱۰/۰۵e
Cu0Zn50	۲/۷۲bc	۰/۶۱cd	۴۲/۵۰de	۳۷/۴۴ bc	۵۸۷/۲۳ bcd	۱/۴۹a	۳/۴۲a	۰/۴۶fg	۰/۶۴fg	۱۰/۷۸b	۱۷/۵۵b
Cu5Zn0	۲/۹۶b	۰/۷۵ab	۴۹/۲۷bc	۳۹/۸۱ab	۶۲۷/۷۲ab	۱/۱۹c	۳/۱۹ab	۰/۵۵e	۰/۸۱e	۷/۰۱ef	۸/۶۷f
Cu5Zn10	۳/۹۷a	۰/۸۰ab	۵۷/۰۲a	۴۰/۹۸a	۶۷۵/۳۴a	۱/۳۹b	۳/۵۲a	۰/۷۵d	۱/۱۳d	۸/۲۵d	۱۲/۲۱d
Cu5Zn50	۲/۸۹b	۰/۶۵bcd	۴۲/۶۳de	۳۸/۱۰ abc	۵۹۱/۰۲bc	۱/۵۳a	۳/۴۱a	۰/۵۶e	۰/۸۶e	۱۲/۹۵a	۲۰/۳۲a
Cu25Zn0	۲/۴۴cd	۰/۶۰cd	۴۰/۰۵def	۳۷/۴۹bc	۵۷۹/۵۵ bcd	۰/۶۶f	۲/۷۹cd	۱/۳۲b	۳/۸۹b	۵/۶۲g	۷/۹۰f
Cu25Zn10	۲/۳۹ cd	۰/۶۱ cd	۳۸/۰۸ef	۳۶/۲۸c	۵۵۲/۵۹cd	۰/۸۲e	۲/۶۵de	۱/۴۹a	۴/۵۵a	۶/۳۵f	۸/۶۶f
Cu25Zn50	۲/۱c	۰/۵۸d	۳۶/۳۳f	۳۶/۱۸ c	۵۲۹/۹۵c	۰/۹۵d	۲/۴۱e	۱/۰۷c	۳/۱۱c	۸/۹۸c	۱۳/۷۶c

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر مس و روی بر غلظت عناصر غذایی در ریشه و شاخساره گیاه بالنگوی شهری

	مس		روی		آهن		منگنز		فسفر	
تیمارها	ریشه (mg/kg)	شاخساره (mg/kg)	ریشه (mg/kg)	شاخساره (mg/kg)	ریشه (mg/kg)	شاخساره (mg/kg)	ریشه (mg/kg)	شاخساره (mg/kg)	ریشه (%)	شاخساره (%)
Cu0Zn0	۶/۷۹f	۳/۳۰h	۹۸/۷۵g	۵۹/۳۳ef	۲۸۴۰/۹۳e	۱۲۳/۰۶cd	۷۰/۵۲g	۲۸/۸۴c	۰/۱۶۶e	۰/۱۶۱a
Cu0Zn10	۱۴/۵۱e	۸/۹۹f	۱۲۵/۸۲ef	۷۵/۳۲cd	۳۰۰۷/۳۴de	۱۳۵/۷۵ab	۸۳/۴۱f	۳۴/۷۰b	۰/۱۹۶cd	۰/۱۴۱bc
Cu0Zn50	۲۲/۳۸d	۷/۱۸g	۱۹۲/۸۶c	۱۳۲/۷۰a	۳۴۲۸/۹۰bc	۱۰۵/۱۵ef	۱۱۳/۶۶bc	۲۵/۴۳de	۰/۲۳۹b	۰/۱۲۴cd
Cu5Zn0	۱۸/۹۰d	۱۰/۷۷e	۱۰۷/۷۵fg	۶۷/۰۳de	۲۹۳۲/۶۵de	۱۳۰/۱۳bc	۷۸/۳۰fg	۳۲/۶۲b	۰/۱۷۷de	۰/۱۶۳a
Cu5Zn10	۲۲/۸۷d	۱۳/۹۳d	۱۱۸/۸۰f	۸۲/۷۹c	۳۰۹۳/۴۱cde	۱۴۶/۱۶a	۸۷/۷۶ef	۳۹/۸۹a	۰/۲۱۷bc	۰/۱۴۷ab
Cu5Zn50	۳۷/۴۶c	۱۰/۳۰ef	۲۲۲/۵۶b	۱۴۱/۴۰a	۳۵۰۷/۳۱ab	۹۸/۷۰fg	۱۲۱/۲۸b	۲۱/۵۳f	۰/۲۷۰a	۰/۱۳۴bcd
Cu25Zn0	۳۳/۷۱c	۲۴/۲۰b	۱۴۱/۶۰de	۵۱/۹۴f	۳۲۰۲/۲۷bcd	۱۱۲/۹۳de	۹۷/۷۰de	۲۷/۳۰cd	۰/۲۲۱b	۰/۱۵۱ab
Cu25Zn10	۴۶/۳۱b	۲۸/۳۸a	۱۵۱/۸۶d	۶۷/۵۰de	۳۴۰۸/۷۱bc	۱۰۵/۱۵ef	۱۰۷/۷۶cd	۲۲/۴۸ef	۰/۲۳۸b	۰/۱۳۲bcd
Cu25Zn50	۵۸/۸۵a	۲۲/۵۷c	۳۳۸/۰۶ a	۱۰۵/۹۲b	۳۷۶۶/۹۱a	۹۲/۳۳g	۱۳۵/۹۷a	۱۹/۶۲f	۰/۲۹۱a	۰/۱۲۲d

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

بازدارندگی بر غلظت روی شاخساره داشته است. گزارش‌های محققین مختلف صحت این مطالب را تأیید می‌نمایند (۱۶، ۳۴ و ۳۹). همچنین، روی در ریشه بیشتر از شاخساره تجمع می‌یابد، که این امر می‌تواند به مکانیسم گیاه دارویی بالنگوی شهری در مواجهه با غلظت‌های زیاد روی نسبت داده شود و مطابق تئوری باکر و همکاران (۱۵) این گیاه با راهبرد اجتناب یا ممانعت کنندگی (Excluder) غلظت‌های زیاد روی را تحمل می‌نماید.

در رابطه با غلظت روی در دمکرده و جوشانده این گیاه دارویی باید اظهار کرد که غلظت این عنصر نیز در دمکرده و جوشانده با افزایش غلظت روی در بخش هوایی این گیاه افزایش یافت. همچنین، غلظت روی در داخل جوشانده بیشتر از دمکرده بود. این نتیجه با یافته‌های بلاژویویچ و همکاران (۱۷) در تضاد بود که اعلام کردند روی و سرب در عصاره جوشانده گیاه دارویی مریم گلی نسبت به شاهد کاهش داشت؛ این امر به تشکیل کلات این عناصر با اسید تانیک و تانن در جوشانده نسبت داده شد. اگر هدف از مصرف دمکرده گیاهان دارویی را خواص درمانی عصاره‌های گیاهی و تأمین بخشی از عناصر معدنی مورد نیاز بدن انسان بدانیم، در اینصورت می‌توان نتیجه گرفت که در غلظت‌های بیش‌بود روی (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، با توجه به عدم نبود استاندارد لازم برای عناصر کم‌مصرف (از جمله مس و روی) در گیاهان دارویی و محصولات به‌دست آمده از این‌ها (اسانس‌ها و عصاره‌ها) و انتقال عناصر مس و روی از مواد خام گیاهی به داخل جوشانده و دمکرده، استفاده از عصاره‌های تهیه شده از گیاهان دارویی کشت شده در زمین‌های آلوده باید با احتیاط لازم صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق در مورد تغییرات ریخت‌شناسی، غلظت عناصر کم‌مصرف و پرمصرف می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که سطوح کم مس و روی موجب افزایش معنی‌دار در خصوصیات ریخت‌شناسی گیاه دارویی بالنگوی شهری می‌شود و همچنین سطوح زیاد همین عناصر باعث بازدارندگی اندک و غیر معنی‌دار رشد می‌گردد. با توجه به تأثیر مس و روی بر افزایش رشد گیاه بالنگوی شهری، مصرف این عناصر در کشت و کار این گیاه پیشنهاد می‌شود. تیمار ترکیبی سطوح کم مس و روی بیشترین غلظت پتاسیم، منگنز و آهن شاخساره را ایجاد کرد. ولی در تیمار ترکیبی سطوح زیاد این عناصر برهمکنش منفی بین مس، روی، آهن، منگنز، فسفر و پتاسیم مشاهده گردید. پس باید در میزان کاربرد آنها همراه با یکدیگر دقت لازم صورت گیرد. میزان تجمع مس و روی در ریشه در مقایسه با شاخساره بیشتر بود. بنابراین، این گیاه دارویی با راهبرد اجتناب یا ممانعت کنندگی، غلظت‌های زیاد مس و روی را تحمل می‌نماید. حداکثر غلظت مس در شاخساره بیشتر از محدوده طبیعی بود؛ ولی برای روی در داخل این محدوده بود. به‌دلیل انتقال عناصر مس و روی به داخل جوشانده و دمکرده گیاه بالنگوی شهری و عدم نبود استاندارد لازم برای این عناصر در گیاهان دارویی، احتمال به خطر افتادن سلامت و ایمنی مصرف‌کنندگان وجود دارد و حتی‌الامکان مواد گیاهی لازم برای تهیه عصاره‌های آبی مانند جوشانده و دمکرده باید از محیط‌های عاری از هر گونه آلودگی محیطی، از جمله فلزات سنگین، برداشت شوند.

منابع مورد استفاده

۱. امیدبیگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد۱، چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۴۷ صفحه.

۲. بوربری، م. ر. و م. م. طهرانی. ۱۳۸۹. اثر برهمکنش مقادیر و روش مصرف مس و روی بر خصوصیات گیاهی و پروتئین گندم. فیزیولوژی گیاهان زراعی ۲(۸): ۲۹-۴۴.

۳. خوشگفتارمنش، ا. ح. ۱۳۸۶. مبانی تغذیه گیاه. چاپ اول، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، ۴۶۲ صفحه.
۴. روحی نوق، ع. ۱۳۹۰. تأثیر کودهای آلی و تراکم بوته بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی بالنگو. پایان‌نامه کارشناسی ارشد اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۰۲ صفحه.
۵. زارع ده آبادی، س. و ز. اسرار. ۱۳۸۷. اثر مقدار اضافی عنصر روی بر میزان تجمع برخی عناصر ضروری و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی نعناع سبز. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۴(۴): ۵۳۰-۵۴۰.
۶. زرگری، ع.. ۱۳۶۷. گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات دانشگاه تهران.
۷. قربانلی، م. و ع. کیاپور. ۱۳۹۱. بررسی اثر غلظت‌های مختلف مس بر رنگیزه‌ها و فعالیت سیستم‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی در گیاه خرفه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸(۲): ۲۳۵-۲۴۷.
۸. ملکوتی، م. ج.، پ. کشاورز و ن. کریمیان. ۱۳۸۷. روش جامع تشخیص و توصیه بهینه کود برای کشاورزی پایدار. چاپ هفتم، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، ۷۱۰ صفحه.
9. Aktas, H., K. Abak, L. Öztürk and İ. Çakmak. 2006. The effect of zinc on growth and shoot concentrations of sodium and potassium in pepper plants under salinity stress. Turk. J. Agric. For. 30: 407-412.
10. Alaoui-Sossé, B., P. Genet, F. Vinit-Dunand, M.L. Toussaint, D. Epron and P.M. Badot. 2004. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. Plant Sci. 166: 1213-1218.
11. Ali, N.A., M.P. Bernal and M. Ater. 2002. Tolerance and bioaccumulation of copper in Phragmites australis and Zea mays. Plant Soil 239: 103-111.
12. Alloway, B.J. 2004. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association, Belgium and France, 130 p.
13. Alloway, B.J. 2013. Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and Their Bioavailability . Springer, London, UK, 613 p.
14. Aziz, E.E., A.A. Ezz El-Din and E. Omer. 2010. Influence of zinc and iron on plant growth and chemical constituents of *Cymbopogon citratus* L. grown in newly reclaimed land. Int. J. Acad. Res. 2: 278-283.
15. Baker, A., R. Reeves and A. Hajar. 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae). New Phytol. 127: 61-68.
16. Bernal, M., R. Cases, R. Picorel and I. Yruela. 2007. Foliar and root Cu supply affect differently Fe-and Zn-uptake and photosynthetic activity in soybean plants. Environ. Exp. Bot. 60: 145-150.
17. Blagojević, N., B. Damjanović-Vratnica, V. Vukašinović-Pešić and D. Đurović. 2009. Heavy metals content in leaves and extracts of wild-growing *Salvia officinalis* from Montenegro. Polish J. Environ. Stud. 18: 167-173.
18. Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agron. J. 54: 464-465.
19. Bremner, J. and C. Mulvaney. 1982. Nitrogen-total. Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, pp. 595-624.
20. Burzyński, M. and G. Kłobus. 2004. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. Photosynth. 42: 505-510.
21. Chaoui, A., S. Mazhoudi, M.H. Ghorbal and E. El Ferjani. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Sci. 127: 139-147.
22. Codex Alimentarius Commission. 2001. Food additives and contaminants. Joint FAO/WHO Food Standards Programme.
23. Commission, E. 2001. Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official J. Eur. Comm. 77: 1-13.
24. Costa, L.M., S.T. Gouveia and J.A. Nobrega. 2002. Comparison of heating extraction procedures for Al, Ca, Mg, and Mn in tea samples. Anal. Sci. 18: 313-318.
25. Dınç, M., N.M. Pınar, S. Dogu and S Yildrimli. 2009. Micromorphological studies of *Lallemantia iberica* L. (Lamiaceae) growing in Turkey. Acta Biol. Cracoviensia Ser. Bot. 51: 45-54.
26. Eisenman, S.W., D.E. Zaurov and L. Struwe. 2013. Medicinal Plants of Central Asia, Uzbekistan and Kyrgyzstan. Springer, New York, 340 p.
27. Fekri, N., M. Khayami, R. Heidari and R. Jamee. 2008. Chemical analysis of flaxseed, sweet basil, dragon head and quince seed mucilages. Res. J. Biol. Sci. 3: 166-170.
28. Guimarães, R., J. Barreira, L. Barros, A.M. Carvalho and I.C. Ferreira. 2011. Effects of oral dosage form and

storage period on the antioxidant properties of four species used in traditional herbal medicine. Phytother. Res. 25: 484-492.
29. Gupta, P.K. and P.K. Gupta. 1999. Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis. Agro Botanica.
30. Haluschak, P. 2006. Laboratory Methods of Soil Analysis. Manitoba Soil Survey, Canada, pp. 3-133.
31. Kabata-Pendias, A. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, New York, 365 p.
32. Kambizi, L. and A. Afolayan. 2001. An ethnobotanical study of plants used for the treatment of sexually transmitted diseases (njovhera) in Guruve District, Zimbabwe. J. Ethnopharmacol. 77: 5-9.
33. Ke, W., Z.T. Xiong, S. Chen and J. Chen. 2007. Effect of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two Rumex japonicas populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. Environ. Exp. Bot. 59: 59-67.
34. Kopittke, P.M. and N.W. Menzies. 2006. Effectof Cu toxicity on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Plant Soil 279: 287-296.
35. Kováčik, J., B. Klejdus, J. Hedbavny, F. Štork and M. Bačkor. 2009. Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Soil 320: 231-242.
36. Kováčik, J., J. Grúz, M. Bačkor, J. Tomko, M. Strnad and M. Repčák. 2008. Phenolic compounds composition and physiological attributes of *Matricaria chamomilla* L. grown in copper excess. Environ. Exp. Bot. 62: 145-152.
37. Kováčik, J., J. Tomko, M. Bačkor and M. Repčák. 2006. *Matricaria chamomilla* L. is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress. Plant Growth Regul. 50: 239-247.
38. Li, Q., S. Cai, C. Mo, B. Chu, L. Peng and F. Yang. 2010. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. Ecotoxicol. Environ. Saf. 73: 84-88.
39. Marschner, H. 2011. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, New York, 899 p.
40. Megateli, S., S. Semsari and M. Couderchet. 2009. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba.* Ecotoxicol. Environ. Saf. 72: 1774-1780.
41. Michaud, A.M., C. Chappellaz and P. Hinsinger. 2008. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). Plant Soil 310: 151-165.
42. Morteza-Semnani, K. 2006. Essential oil composition of *Lallemantia iberica* Fisch. CA Mey. J. Essential Oil Res. 18: 164-165.
43. Musa Özcan, M., A. Ünver, T. Uçar and D. Arslan. 2008. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. Food Chem. 106: 1120-1127.
44. Natesan, S. and V. Ranganathan. 1990. Content of various elements in different parts of the tea plant and in infusions of black tea from southern India. J. Sci. Food Agric. 51: 125-139.
45. Nori-Shargh, D., S. Kiaei, F. Deyhimi, V. Mozaffarian and H. Yahyaei. 2009. The volatile constituent's analysis of *Lallemantia iberica* (MB) Fischer & Meyer from Iran. Nat. Prod. Res. 23: 546-548.
46. Olowoyo, J., O. Okedeyi, N. Mkolo, G. Lion and S. Mdakane. 2012. Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa. South Afr. J. Bot. 78: 116-121.
47. Page, A.L. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties, ASA, SSSA, Madison, WI.
48. Päivöke, A.E. 2002. Soil lead alters phytase activity and mineral nutrient balance of *Pisum sativum* L. Environ. Exp. Bot. 48: 61-73.
49. Pande, P., M. Anwar, S. Chand, V.K. Yadav and D. Patra. 2007. Optimal level of iron and zinc in relation to its influence on herb yield and production of essential oil in menthol mint. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 38: 561-578.
50. Pytlakowska, K., A. Kita, P. Janoska, M. Połowniak and V. Kozik. 2012. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. Food Chem. 135: 494-501.
51. Rion, B. and J. Alloway. 2004. Fundamental aspects of zinc in soils and plants. International Zinc Association, 128 p.
52. Samadi, S., M. Khaiyami and A.H.G. Tappe. 2007. A comparison of important physical and chemical characteristics of six *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. Pak. J. Nutr. 6: 387-390.
53. Sparks, D.L., A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C.T. Johnston and M.E. Sumner. 1996. Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, Soil Science Society of America Inc.
54. Thomas, G., D.L. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, C.T. Johnston and M.E. Sumner. 1996. Soil pH and soil acidity. Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods, pp. 475-490.
55. Tokalıoğlu, Ş. 2012. Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis. Food Chem. 134: 2504-2508.
56. Upadhyaya, H., B.K. Dutta and S.K. Panda. 2013. Zinc modulates drought induced biochemical damages in tea [*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze]. J. Agric. Food Chem. 61(27): 6660-6670.

57. Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.
58. Zheljazkov, V.D. and N.E. Nielsen. 1996. Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. Plant Soil 178: 59-66.
59. Zheljazkov, V.D., L.E. Craker, B. Xing, N.E. Nielsen and A. Wilcox. 2008. Aromatic plant production on metal contaminated soils. Sci. Total Environ. 395: 51-62.