فصلنامه علوم محیطی، دوره بیستم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱

۱۹۸-۱۷۹

مقاله پژوهشی

ویژگی های جوانه زنی بذر گیاهان روییده در معدن های زغال سنگ به تنش فلزهای مس، سرب و کادمیوم

ناطق لشکری صنمی[۱]، جمشید قربانی[۱*]، سید محمد حجتی[۲]، قربان وهاب‌زاده[۳] و بابک متشرع‌زاده[۴]

[۱] گروه مرتعداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۲] گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۳] گروه آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
[۴] گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۰۳/۱۱

لشکری صنمی، ن.، ج. قربانی، س.م. حجتی، ق. وهاب‌زاده و ب. متشرع‌زاده. ۱۴۰۱. ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گیاهان روییده در معدن‌های زغال سنگ به تنش فلزهای مس، سرب و کادمیوم. فصلنامه علوم محیطی. ۲۰(۱): ۱۷۹-۱۹۸.

سابقه و هدف: فعالیت‌های معدنکاری موجب آسیب به محیط زیست در سراسر دنیا شده است. باطله‌های معدنی متروک حاصل از فعالیت‌های معدنکاری به‌دلیل شرایط نامناسب و همراه داشتن طیف وسیعی از فلزهای سنگین، موجب محدودیت رشد گیاهان می‌شوند. شناسایی گیاهان حاضر در محیط‌های معدنی و بررسی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر آن‌ها به‌منظور استفاده از این گیاهان در احیاء پوشش گیاهی اهمیت دارد. در این تحقیق، ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گیاه افسنطین (*Artemisia absinthium*)، ازمک (*Lepidium draba*) و خارمریم (*Silybum marianum*) که در باطله‌های معدنی زغال‌سنگ در استان مازندران رویش دارند در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم بررسی شد.

مواد و روش‌ها: بذرها از توده‌های گیاهی مستقر در باطله‌های زغال سنگ در طی دو سال جمع‌آوری شدند. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. محلول سولفات مس و نیترات سرب در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نیترات کادمیوم در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان تیمار انتخاب شدند. برای هر تکرار تعداد ۲۰ بذر روی یک لایه کاغذ صافی در پتری‌دیش قرار داده شد. سپس تیمارها اعمال و در ژرمیناتور با کنترل دما، نور و رطوبت قرار داده شدند. شمارش تعداد بذور جوانه‌زده در هر پتری‌دیش به‌صورت روزانه و تا ثابت شدن جوانه‌زنی ادامه یافت. در پایان آزمایش ویژگی‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، ضریب آلومتری (نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه)، سنجه بنیه بذر، درصد سمیت برای ریشه‌چه و سنجه تحمل بذر اندازه‌گیری شدند.

* Corresponding Author: *Email Address*. J.ghorbani@sanru.ac.ir
http://dx.doi.org/ 10.52547/envs.2021.1041
http://dorl.net/dor/ 20.1001.1.17351324.1401.20.1.12.1

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که افزایش غلظت مس، سرب و کادمیوم به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گیاهان اثر داشت. بذر گونه *S. marianum* در تیمار مس و سرب، گونه *A. absinthium* در پاسخ به سرب و گونه *L. draba* تحت تنش کادمیوم درصد و سرعت جوانه‌زنی بالاتری داشتند. شدیدترین کاهش درصد جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای کادمیوم برای *A. absinthium* مشاهده شد. با افزایش غلظت عناصر، کاهش معنی‌دار در درصد و سرعت جوانه‌زنی برای *A. absinthium* زودتر از دو گونه دیگر مشاهده شد. مقادیر کم غلظت فلزها موجب کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در هر سه گیاه شد و *S. marianum* دارای بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در تمامی غلظت‌های اعمال شده فلزها بود. مس نسبت به سرب و کادمیوم کاهش بنیه بذر بیشتری را سبب شد. بذر گونه *L. draba* نسبت به سمیت کادمیوم و گونه *S. marianum* نسبت به سمیت سرب و مس سنجه تحمل بذر بالاتری داشتند. در همه تیمارها با افزایش غلظت، میزان سمیت گیاهی افزایش یافت. کمترین میزان سمیت گیاهی در تنش مس و سرب برای *S. marianum* و در کادمیوم برای *L. draba* مشاهده شد. درصد سمیت مس و کادمیوم بویژه در غلظت‌های بالا برای بذر گونه *A. absinthium* بیشتر بود. با توجه به اعمال غلظت‌های مشابه برای مس و سرب، همه گونه‌ها در تنش مس با محدودیت بیشتری همراه بوده‌اند. غلظت‌های پایین‌تر کادمیوم تا حدی برای گیاهان قابل تحمل بوده اما به‌طور کلی بیشترین اثر بازدارندگی را بر گونه‌ها و بویژه گونه *A. absinthium* داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، پاسخ گیاهان به این تنش‌ها بر حسب نوع گونه، نوع فلز و غلظت آن‌ها متفاوت بوده است. هر سه گونه در غلظت‌های بالای فلزهای سنگین توانایی جوانه‌زنی داشتند. حضور این گونه‌ها در باطله‌های زغال‌سنگ و توانایی جوانه‌زنی آن‌ها در غلظت‌های بالای فلزهای سنگین موجب می‌شود تا بتوان این گیاهان را در برنامه‌های احیایی آینده و گیاه‌پالایی به کار گرفت.

واژه‌های کلیدی: باطله‌های معدنی، بنیه بذر، سمیت گیاهی، فلزهای سنگین، گیاه‌پالایی.

مقدمه

فلزهای سنگین از اجزای طبیعی خاک هستند اما افزایش غلظت آن‌ها در خاک موجب تنش در اندام‌های گیاهی می‌شود (Kabata-Pendias, 2000). افزایش فعالیت‌های معدنکاری، صنایع ذوب فلز، کشاورزی مدرن و استفاده از سم‌ها موجب افزایش غلظت‌های فلزهای سنگین در محیط شده است (Ali *et al*., 2013). فعالیت‌های معدنی با ایجاد مواد باطله فراوان همراه بوده و به‌عنوان منبع‌های اصلی آلودگی خاک با فلزهای سنگین هستند. باطله‌های معدنی زغال‌سنگ به‌طور عمده متشکل از غلظت‌های زیاد سرب، روی، مس و کادمیوم هستند (Masto *et al*., 2017). این باطله‌ها شامل مقادیر قابل‌توجهی از سولفیدها مانند پیریت (FeS_2)، کالکوپیریت ($CuFeS_2$)، کوولیت (CuS)، کالکوسیت (Cu_2S)، گالن (PbS) و همچنین سولفیدهای حاوی کادمیوم مانند گرینوکیت (CdS) هستند که بیشتر به‌همراه اسفالریت و ورتزیت $\{(Zn,Fe)S\}$ یافت می‌شوند (Blowes *et al*., 2014). با تداوم بهره‌برداری از معادن، تجمع فلزها در خاک افزایش می یابد (Blowes *et al*., 2014). فلزهای سنگین در غلظت‌های بالا موجب سمیت شدید در گیاهان شده و در نتیجه، جذب و استفاده از آن‌ها توسط سلول‌های گیاهی محدود می‌شود (Farias *et al*., 2013).

جوانه‌زنی اولین مرحله از زندگی یک گیاه بوده و یکی از حساس ترین فرآیندها در فیزیولوژی گیاهان است. استقرار موفق گیاهچه‌ها به قدرت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بستگی دارد (Saberi and Karimian, 2019). جلوگیری از جوانه‌زنی بذر از مهمترین اثرهای سمیت فلزهای سنگین است. بنابراین، تغییرات ناشی از تنش فلز سنگین در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، بیشتر به‌عنوان سنجه‌ای مهم در ارزیابی تحمل گیاهان به فلزهای سنگین در نظر گرفته می‌شود (Kranner and Colville, 2011). به‌منظور ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف فلزهای سنگین بر گیاهان مطالعات زیادی انجام شده است. مطالعات نشان می‌دهد که کادمیوم از سمی‌ترین فلزهای سنگین بوده و برای رشد گیاه غیرضروری است. این فلز با جلوگیری از تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها، موجب کاهش رشد و ضعیف شدن گیاه می‌شود (Benavides *et al*.,

2005). ظرفیت رشد پایین‌تر تحت آلودگی کادمیوم، بیشتر مربوط به کاهش فتوسنتز است (Pietrini *et al*., 2003). مس یک ریزمغذی ضروری برای رشد و توسعه گیاه بوده و نقش مهمی در فتوسنتز، تنفس و پاسخ به تنش اکسیداتیو دارد. مقادیر زیاد مس می‌تواند موجب طیف وسیعی از اختلالات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شود و میزان جوانه‌زنی، طول اندام هوایی، زی‌توده گیاهی و میزان آب را کاهش دهد (Ahsan *et al*., 2007). سرب یکی از سنگین‌ترین فلزهای غیرضروری بوده که در اثر فعالیت‌های گسترده انسان‌ها به محیط‌های طبیعی آزاد می‌شود. سرب موجب تأخیر در رشد گیاه شده و درصد جوانه‌زنی بذر، طول گیاهچه، سنجه تحمل و وزن خشک اندام هوایی و ریشه را کاهش می‌دهد (Iqbal and Shazia, 2004). در کل، تأثیر عنصرهای سنگین بر گیاهان به نوع فلز، مقادیر موجود و نوع گونه گیاهی بستگی دارد (El Rasafi *et al*., 2016).

زغال‌سنگ از مهمترین مواد معدنی بوده که نقش مهمی در تولید انرژی و اقتصاد جهان دارد. بررسی خاک‌های اطراف بیشتر معدن‌های زغال‌سنگ در نقاط مختلف دنیا، آلودگی به فلزهای سنگین از قبیل سرب، کادمیوم، روی، مس، منگنز و نیکل را نشان می‌دهد (Ahmadiyan and Motesharezade, 2016). مطالعه اثر فلزهای سنگین بر ویژگی‌های گیاهان موجب شناخت گونه‌های گیاهی مقاوم و استفاده از آن‌ها در پالایش خاک‌های آلوده می‌شود. گونه‌های گیاهی بومی به‌دلیل سازگاری بهتر با شرایط محلی، نقش مهمی در گیاه‌پالایی منطقه‌های معدنی دارند (Monaci *et al*., 2019).

معدن‌های زغال‌سنگ سوادکوه از قدیمی‌ترین مناطق تولیدکننده زغال‌سنگ در حوضه زغالی البرز مرکزی هستند. با توجه به اهمیت این ماده معدنی، مناطق قابل برداشت زغال‌سنگ و در نتیجه باطله‌های دورریز آن در این ناحیه، پیوسته در حال افزایش است. این موضوع موجب تخریب بخش زیادی از طبیعت و به دنبال آن پوشش گیاهی شده و استقرار گونه‌های گیاهی را با مشکل مواجه کرده است. پوشش گیاهی نواحی اطراف مناطق معدنی مشجر و ترکیبی از گیاهان بوته‌ای، درختچه‌ای و علفی هستند. در باطله‌های زغال‌سنگ واقع در کارمزد سوادکوه در استان مازندران، گونه‌های افسنطین (*Artemisia absinthium*)، ازمک (*Lepidium draba*) و خار مریم (*Silybum marianum*) از گیاهان غالب هستند (Lashgari *et al*., 2016). خارمریم گیاهی یک یا دوساله از تیره آفتابگردان (*Asteraceae*) است که بیشتر در زیستگاه‌های دستخوش تغییرات ناشی از فعالیت‌های انسانی ظاهر می‌شود. بذرهای این گیاه به آسانی به‌وسیله باد منتقل شده و جوانه‌زنی خوبی دارند (McKenna *et al*., 2002). افسنطین گیاهی چندساله و بوته‌ای متعلق به تیره آفتابگردان (*Asteraceae*) و از جمله مهمترین گونه‌های جنس درمنه است (Mozaffarian, 2008). این گونه قابلیت تحمل شوری و آلودگی فلز روی تا غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر را دارد (Trofimova *et al*., 2012). گونه ازمک گیاهی چندساله استولون‌دار و متعلق به خانواده شب‌بو (*Brassicaceae*) است که بیشتر در بسیاری از مناطق تخریب شده و کنار جاده‌ها می‌روید (Jamalloo and Ghorbani Ghomi, 2015). هر پایه گیاهی آن قادر به تولید تعداد ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ بذر در هر سال است. بذرهای آن توانایی زنده‌مانی در خاک را به مدت دو سال دارند. این گونه محیط‌های تحت تنش را به خوبی تحمل می‌کند (Jamalloo and Ghorbani Ghomi, 2015). در میان باطله‌های معدنی، باطله‌های زغال‌سنگ که به‌صورت توده‌های زباله جامد است، دارای طیف گسترده‌ای از فلزهای سنگین هستند. این باطله‌ها به مرور زمان و تحت شرایط مختلف، می‌توانند به‌عنوان منبع آلودگی عمل کنند. یکی از اقدام‌های مؤثر در بهبود شرایط این منطقه‌ها و کنترل آلاینده‌ها در درازمدت، به‌کارگیری گیاهانی است که بتوانند به‌طور طبیعی در این مناطق رویش نمایند. شناخت ویژگی گیاهانی که به‌طور طبیعی در مناطق

معدنی مستقر می‌شوند اهمیت دارد. زیرا در احیای پوشش گیاهی این منطقه‌ها نقش مهمی دارند (Prach *et al*., 2001). بنابراین، با توجه به حضور طبیعی این گیاهان در باطله‌های زغال‌سنگ ضرورت دارد تا دامنه بردباری آن‌ها نسبت به شرایط نامطلوب این محیط مورد ارزیابی قرار گیرد. در گام نخست، بررسی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر آن می‌تواند اطلاعات مفیدی را در مورد پاسخ این گیاهان به حضور عناصر فلزی موجود در باطله‌های زغال-سنگ ارائه دهد. با شناسایی گونه‌های گیاهی بومی و مقاوم به غلظت‌های بالاتر آلاینده‌ها، می‌توان از پتانسیل ارزشمند آن‌ها در برنامه‌ریزی‌های اصلاح و احیای این مناطق و منطقه‌های مشابه استفاده کرد. در این تحقیق ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* که پتانسیل استقرار طبیعی در باطله‌های زغال سنگ را دارند، تحت تأثیر مقادیر مختلف فلزهای مس، سرب و کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

معدن‌های زغال‌سنگ منطقه کارمزد در شهرستان سوادکوه استان مازندران واقع شده‌اند. استخراج زغال-سنگ از معدن‌های کارمزد از سال ۱۳۵۰ آغاز شده و نوع بهره‌برداری هم به‌صورت زیرزمینی می‌باشد. از نظر جغرافیایی، این معدن‌ها بین طول‌های جغرافیایی ″۳۸ ′۵۷ °۵۲ تا ″۱۲ ′۵۸ °۵۲ شرقی و عرض‌های جغرافیایی ″۵۷ ′۰۵ °۳۶ تا ″۵۳ ′۰۶ °۳۶ شمالی و در ۴۸ کیلومتری جنوب شهرستان قائم‌شهر و در فاصله ۲۵ کیلومتری آلاشت قرار دارند (Lashgari *et al*., 2016). بذر گیاهان مورد بررسی که به‌طور طبیعی در باطله‌های معدنی مستقر هستند، با بازدیدهای مکرر میدانی جمع‌آوری شد. شرایط سخت رویشی در باطله‌های زغال سنگ به‌طور معمول موجب می‌شود تا بذردهی گیاهان با مشکل مواجه شود. با پایش دو ساله منطقه، بذر گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* به‌ترتیب در آبان ۱۳۹۷ و خرداد ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. بذرها به آزمایشگاه منتقل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال به مدت یک ماه نگهداری شدند. ابتدا بذرهای سالم و درشت از بذرهای چروکیده و کوچک جدا و با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت ۱۰ دقیقه استریل و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. آزمایش به‌صورت طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل محلول سولفات مس، نیترات سرب و نیترات کادمیوم در غلظت-های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای مس و سرب و غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر برای کادمیوم بودند. در تجزیه اولیه باطله‌ها متوسط مقادیر مس، سرب و کادمیوم به-ترتیب ۹۷، ۳۳/۶۶ و ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم بودند (Lashgari *et al*., 2017). از دیگر ویژگی‌های باطله می-توان به مقادیر رس (۱۳/۹۳ درصد)، سیلت (۱۱/۸۲ درصد)، شن (۷۳/۹۴ درصد)، اسیدیته (۶/۵۲)، هدایت الکتریکی (۱/۳۱ دسی زیمنس بر متر)، ازت (۰/۱۹ درصد)، فسفر (۳/۹۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) و پتاسیم (۲۸۲/۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) اشاره داشت. انتخاب سطوح فلزات معادل چند برابر میزان غلظت آن‌ها در باطله‌های معدنی تعیین شد (Boi *et al*., 2020). در هر تیمار و تکرار ۲۰ عدد بذر روی یک لایه کاغذ صافی در هر پتری‌دیش قرار داده و غلظت‌های مختلف نمک‌ها اعمال شدند (Bezini *et al*., 2019). از آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد استفاده شد.

پتری‌دیش‌ها برای جلوگیری از تبخیر با پارافیلم مهر و موم و در ژرمیناتور تحت دامنه دمایی ۲۵ - ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند (ISTA, 2017). پس از کشت، شمارش تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر پتری‌دیش به‌صورت روزانه و تا ثابت شدن جوانه‌زنی ادامه یافت. بذرهایی که ریشه‌چه آن‌ها دو میلی‌متر از پوسته بذر خارج شده باشد به‌عنوان

بذرهای جوانه‌زده در نظر گرفته شدند (Soltani, 2001). طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با انتخاب تصادفی تعداد ۱۰ گیاهچه از هر پتری‌دیش با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و برای تیمارها و تکرارهای مختلف میانگین آن‌ها محاسبه شد. همچنین ویژگی‌های درصد جوانه‌زنی (Agraval, 2005)، سرعت جوانه‌زنی (Chiapusio *et al.*, 1997)، ضریب آلومتری (نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه) و سنجه بنیه بذر (Abdul-Baki and Anderson, 1973)، درصد سمیت برای ریشه‌چه (Chou and Lin, 1976) و سنجه تحمل بذر به تنش (Iqbal and Rahmati, 1992) محاسبه شدند.

داده‌های به‌دست آمده به لحاظ نرمال بودن با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف[1] کنترل و در صورت پیروی نکردن از توزیع نرمال، تبدیل لگاریتمی انجام شد. تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی در نرم افزار R و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD[2] انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطح‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، سنجه بنیه بذر، ضریب آلومتری، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، سنجه تحمل و سمیت گیاهی گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* اثر معنی‌دار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس سنجه‌های جوانه‌زنی بذر گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در سطح‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 1. Results of ANOVA for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* seed germination indices under different levels of Cu, Pb and Cd

متغیرهای جوانه‌زنی بذر Seed germination variables	نیترات کادمیوم Cd(NO3)2			سولفات مس CuSO4			نیترات سرب Pb(NO3)2		
	A. absinthium	L. draba	S. marianum	A. absinthium	L. draba	S. marianum	A. absinthium	L. draba	S. marianum
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	52.33**	3.58*	4.59*	9.09**	5.04*	8.08**	4*	4.58*	1.09ns
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	37.25**	3.52*	87.26**	10.14**	5.02*	22.73**	2.80ns	4.09*	2.68ns
سنجه بنیه Vigor index	285.40**	191.93**	52.33**	264.92**	866.66**	154.6**	156.09**	89.15**	11.76**
ضریب آلومتری Allometric index	98.59**	21.50**	47.63**	136.25**	120.55**	49.96**	137.99**	42.34**	7.29**
طول ریشه‌چه Radicle length	437.70**	154.53**	104.5**	605.56**	398.98**	224.2**	317.15**	53.33**	10.15**

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس سنجه‌های جوانه‌زنی بذر گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در سطح‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 1. Cont. Results of ANOVA for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* seed germination indices under different levels of Cu, Pb and Cd

	Cd(NO3)2 نیترات کادمیوم			CuSO4 سولفات مس			Pb(NO3)2 نیترات سرب		
متغیرهای جوانه‌زنی بذر Seed germination variables	A. absinthium	L. draba	S. marianum	A. absinthium	L. draba	S. marianum	A. absinthium	L. draba	S. marianum
طول ساقه‌چه Plumule length	249.61**	81.85**	16.46**	146.09**	912.51**	11.37**	15.14**	14.63**	2.10ns
سنجه تحمل Tolerance index	173.01**	9.34**	37.95**	98.58**	69.38**	79.78**	102.30**	124.51**	8.31**
درصد سمیت گیاهی Phytotoxicity percentage	13.27**	8.81**	13.57**	22.72**	46.25**	27.58**	57.57**	15.29**	8.05**

اعداد مقادیر F و معنی‌داری عبارت است از *: ۰/۰۵≥ p، **: ۰/۰۱≥ p > ۰/۰۰۱ و ns، عدم معنی‌داری

Data are F value with significant level: *: 0/05≥p, **: 0/01≥p>0/001 and ns: not significant

درصد و سرعت جوانه‌زنی[۳]

نتایج نشان داد که گونه *S. marianum* نسبت به دو گونه دیگر، درصد جوانه‌زنی بالاتری را در پاسخ به سمیت مس داشت (جدول ۲). به‌طوریکه اختلاف جوانه‌زنی بین تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر با شاهد برای این گونه تنها ۱۰ درصد بود. برای گونه‌های *A. absinthium* و *L. draba* کمترین درصد جوانی‌زنی مربوط به تیمار ۳۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. در مورد عنصر سرب، درصد جوانه‌زنی گونه *S. marianum* معنی‌دار نشد. تنها تیمار ۲۰۰ میلی-گرم در لیتر برای گونه *A. absinthium* و تیمار ۳۰۰ میلی-گرم در لیتر در گونه *L. draba* موجب کاهش درصد جوانه-زنی شدند (جدول ۲). درصد جوانه‌زنی گونه‌ها در پاسخ به کادمیوم به‌ترتیب *A. absinthium* < *S. marianum* < *L. draba* بود. کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی در گونه‌های *L. draba* و *S. marianum* تنها مربوط به سطح ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بوده است (جدول ۲).

در پاسخ به تنش مس، کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی برای گونه‌های *A. absinthium* و *L. draba* در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشتر بود. گونه *S. marianum* سرعت جوانه‌زنی بالاتری را نسبت به گونه‌های *A. absinthium* و *L. draba* داشت. در پاسخ به تنش سرب، اختلاف معنی‌داری بین سطح‌های مختلف سرب برای گیاه افسنطین و خار مریم مشاهده نشد، اما سرعت جوانه‌زنی بذر گیاه ازمک تنها در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کاهش معنی‌دار نشان داد (جدول ۲). مقایسه میانگین سرعت جوانه‌زنی گونه‌ها نسبت به غلظت‌های مختلف کادمیوم نشان داد که سرعت جوانه‌زنی گونه *S. marianum* < *L. draba* < *A. absinthium* بوده است (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 2. Average of seed germination percentage and germination rate for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* in different concentrations of Cu, Pb and Cd

فلز Metal	گونه Species	درصد جوانه‌زنی (Germination percentage)					سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) (Germination rate)				
		تیمارها Treatments									
		0	50	100	200	300	0	50	100	200	300
مس (Cu)	*A. absinthium*	100 a	98.31a	89.90b	84.9b	6.48a	6.49a	6.52a	5.99b	5.57c
	L. draba	100 a	98.31ab	89.91bc	86.44c	6 .55a	6.30ab	6.26ab	5.65bc	5.43c
	S. marianum	100 a	100 a	98.30a	89.91b	6.52a	6.51a	6.42a	6.29a	5.69b
سرب (Pb)	*A. absinthium*	100 a	100 a	96.63b	100 a	6.48	6.58	6.55	6.37	6.66
	L. draba	100 a	100 a	94.91ab	93.30b	6.55a	6.50a	6.40a	6.14ab	5.86b
	S. marianum	100	98.30	96.64	94.91	6.52	6.23	6.14	6.01	5.93
		تیمارها Treatments									
		0	5	10	20	30	0	5	10	20	30
کادمیوم (Cd)	*A. absinthium*	100 a	94.91a	91.45a	45.82b	24.66c	6.48a	6.03a	6.05a	2.90b	1.16c
	L. draba	100 a	100 a	94.91ab	89.73 ab	83.09 b	6.55a	6.53a	6.35a	6.11ab	5.77b
	S. marianum	100 a	100 a	94.91 a	89.73 ab	83.09 b	6.52a	6.15ab	5.77bc	5.31cd	4.85d

مقادیر دارای حروف مشترک در هر ردیف برای هر گونه گیاهی در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Values in each row for each plant species followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using LSD Test

با افزایش غلظت هر یک از عنصرها، روند کاهشی در صفات جوانه‌زنی مشاهده شد. Ko *et al.* (2012) بیان کردند تأثیر فلزها بر جوانه‌زنی به توانایی آن‌ها در رسیدن به بافت‌های جنینی در طول غشای بذر، سد فیزیولوژیکی و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی یون‌های فلزی بستگی دارد. از نظر درصد و سرعت جوانه‌زنی، در مقایسه با سرب، جوانه‌زنی بذر گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* بیشتر تحت تأثیر تیمارهای مس و کادمیوم قرار گرفت. همچنین در مقایسه تأثیر فلزها بر این گونه‌ها مشخص شد که کاهش بیشتر این صفت‌ها در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مس و سرب و ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم مشهود بود. این موضوع می‌تواند به‌دلیل اثرهای سمی این یون‌ها بر فرایند جوانه‌زنی بویژه در غلظت‌های بالا باشد (Khajeh-Hosseini *et al.*, 2003). کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه تحت تأثیر فلزهای بیان شده در سایر مطالعات تأیید شده است. Abraham *et al.* (2013) در مطالعات خود بر بازدارنگی ویژگی‌های جوانه‌زنی *Arachis hypoheae* در غلظت‌های بالای کادمیوم، مس و سرب بیان کردند که تأثیر غلظت‌های بالا (۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر کاهش جوانه‌زنی شدیدتر بوده، اما کادمیوم بازدارندگی بیشتری را نسبت به مس و سرب موجب شد. در مطالعه Li (2005) *et al.* برای گونه *Arabidopsis thaliana* مشخص شد که کادمیوم و مس تحت تأثیر مقادیر آزمایش شده کاتیون‌های کلسیم، منیزیم، سدیم و پتاسیم قرار نگرفته اما سمیت سرب و روی کاهش یافت. Golubovic (2012) Curge *et al.* در مورد گونه *Picea abies* دریافتند که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر فلزهای مس، روی، سرب و کادمیوم موجب توقف کامل جوانه‌زنی گیاه شد. براساس نتایج، گونه *S. marianum* در پاسخ به سمیت مس و سرب، گونه *A. absinthium* در تنش سرب و گونه *L. draba* در پاسخ به کادمیوم درصد و سرعت جوانه‌زنی

بالاتری داشتند. همان‌طور که در برخی مطالعات اشاره شده، غشای بذر بسیاری از گونه‌ها نقش مهم دفاعی در برابر تنش‌های غیرزنده داشته و اختلاف در مورفولوژی غشای بذر ممکن است در نفوذپذیری فلزهای مختلف تأثیر بگذارد (Wierzbicka and Obidzinska, 1998). اما از آنجایی که آب نقش مهمی در جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه دارد، برخی فلزها مانند مس و کادمیوم می‌توانند موجب کاهش میزان جذب و انتقال آب مورد نیاز بذر، کاهش تنفس و تعرق شوند (Kranner and Colville, 2011). Lefevre *et al.* (2009) نشان دادند که در گونه *Dorycnium pentaphyllum* کادمیوم مانع از جذب آب توسط بذر می‌شود. به‌طور مشابه اثرهای سمی مس در جوانه‌زنی بذر گونه *Arabidopsis thaliana* گویای عدم جذب آب کافی توسط بذر بوده است (Li *et al.*, 2005). دلیل دیگر بر کاهش جوانه‌زنی به واسطه تغییرات بیوشیمیایی است که شامل مهار فعالیت‌های آمیلاز و اسید فسفاتاز بوده که بر ذخیره‌های بذر و تأمین مواد غذایی مورد نیاز جوانه‌زنی تأثیر می‌گذارد (Mihoub *et al.*, 2005).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه[۴]

طول ریشه‌چه هر سه گونه کاهش معنی‌داری را با افزایش غلظت‌های مس، سرب و کادمیوم نشان داد (جدول ۳). در بین همه تیمارها، بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه به ترتیب مربوط به گونه *S. marianum* و *A. absinthium* بود. در مورد سرب، برای گونه‌های *S. marianum* و *L. draba* کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه از سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر شروع شد (جدول ۳).

تحت تنش مس، در هر سه گونه کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه از تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر شروع و کمترین آن در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۳). گونه *S. marianum* بیشترین و گونه *A. absinthium* کمترین طول ساقه‌چه را داشتند. در پاسخ به تنش سرب، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های اعمال شده برای گونه *S. marianum* مشاهده نشد. در گونه *L. draba* از تیمار شاهد تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری در طول ساقه‌چه وجود نداشت و کمترین طول ساقه‌چه با ۲/۵۸ سانتی‌متر مربوط به سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۳). گونه *A. absinthium* در تمامی غلظت‌ها دارای کمترین طول ساقه‌چه بود. از نظر کادمیوم، در گونه *L. draba* از تیمار شاهد تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری در طول ساقه‌چه دیده نشد (جدول ۳). در گونه *A. absinthium* و *S. marianum* کاهش طول ساقه‌چه از سطح ۵ میلی‌گرم در لیتر شروع شد. مقایسه این سه گونه در پاسخ به کادمیوم نشان داد که طول ساقه‌چه گونه *A. absinthium* در تمامی سطح‌ها کمتر از دو گونه دیگر بوده و در بالاترین غلظت کادمیوم گونه *S. marianum* دارای بیشترین طول ساقه بود.

جدول ۳- میانگین طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 3. Average of radicle and plumule length for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* in different concentrations of Cu, Pb and Cd

فلز Metal	گونه Species	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) (Radicle length)					طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) (Plumule length)				
		تیمارها Treatments									
		0	50	100	200	300	0	50	100	200	300
مس (Cu)	*A. absinthium*	2.53^{a}	0.45^{b}	0.10^{c}	0.04^{c}	0.04^{c}	0.59^{a}	0.27^{b}	0.18^{c}	0.10^{d}	0.07^{d}
	L. draba	3.52^{a}	0.44^{b}	0.19^{c}	0.12^{c}	0.09^{c}	3.15^{a}	2.23^{b}	0.93^{c}	0.63^{d}	0.40^{e}
	S. marianum	15.72^{a}	7.83^{b}	2.82^{c}	1.02^{d}	0.45^{e}	4.30^{a}	2.40^{b}	2.20^{bc}	1.46^{cd}	1.41^{d}

ادامه جدول ۳- میانگین طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 3. Cont. Average of radicle and plumule length for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* in different concentrations of Cu, Pb and Cd

فلز Metal	گونه Species	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) (Radicle length)					طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) (Plumule length)				
		تیمارها Treatments									
		0	50	100	200	300	0	50	100	200	300
سرب (Pb)	*A. absinthium*	2.53^{a}	1.68^{b}	1.07^{c}	0.53^{d}	0.24^{e}	0.59^{a}	0.50^{b}	0.44^{bc}	0.37^{c}	0.38^{c}
	L. draba	3.52^{a}	3.17^{a}	2.13^{b}	1.22^{c}	0.78^{d}	3.15^{a}	3.05^{a}	2.95^{ab}	2.85^{ab}	2.58^{c}
	S. marianum	15.72^{a}	14.54^{a}	8.99^{b}	7.99^{b}	6.05^{b}	4.30	4.08	4.07	3.71	3.53
		تیمارها Treatments									
		0	5	10	20	30	0	5	10	20	30
کادمیوم (Cd)	*A. absinthium*	2.53^{a}	2.09^{b}	0.65^{c}	0.11^{d}	0.04^{d}	0.59^{a}	0.46^{b}	0.42^{b}	0.18^{c}	0.07^{d}
	L. draba	3.52^{a}	2.28^{b}	1.78^{c}	1.22^{d}	0.27^{e}	3.15^{a}	3.07^{a}	2.63^{ab}	2.41^{b}	0.59^{c}
	S. marianum	15.72^{a}	5.34^{b}	3.48^{c}	1.78^{d}	0.90^{e}	4.30^{a}	2.71^{b}	2.68^{b}	1.75^{c}	1.32^{c}

به‌طور کلی، در گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* تأثیر بازدارندگی فلزها در ریشه‌چه گیاه نسبت به ساقه‌چه بیشتر بود. گونه *S. marianum* دارای بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در تمامی غلظت‌های اعمال شده فلزها بود. رشد ریشه‌چه ترکیبی از تقسیم و کشیدگی سلولی است. در این مورد، بسیاری از گونه‌های گیاهی پس از قرار گرفتن در معرض فلزهای سنگین با کاهش فعالیت میتوزی مواجه شده و در نهایت رشد ریشه متوقف می‌شود (Thounaojam *et al*., 2012). از طرفی ریشه، اولین اندام گیاهی در تماس با فلزها بوده و غلظت‌های بالای فلزها آن را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهند (da Silva *et al*., 2017). با توجه به موارد بالا می‌توان اظهار کرد که گونه *S. marianum* در مرحله جوانه‌زنی مقاومت بیشتری را نسبت به تنش این فلزها نشان می‌دهد. دلیل کاهش بیشتر طول ریشه‌چه تحت تنش مس نسبت به سرب را Peto *et al*. (2011) این گونه بیان کردند که سطح‌های بیش از حد مس از رشد طولی ریشه جلوگیری کرده و با ایجاد تغییراتی در سطح اکسین که سبب تضعیف عملکرد نیتریک اکسید می‌شود، مورفولوژی را تغییر می‌دهد. همچنین Wani *et al*. (2012) نشان دادند که مهار رشد ریشه با افزایش قطر و کاهش طول ریشه همراه بوده که بیانگر تأثیر فلزهای سنگین بر اسکلت سلولی گیاه است. در تیمار سرب کاهش طول ریشه‌چه در مقایسه با مس و کادمیوم کمتر بود که همسو با نتایج Abraham *et al*. (2013) است. در تحقیق Tatian *et al*. (2014) روی گونه چاودار کوهی نیز بر تأثیرگذاری بیشتر مس نسبت به سرب اشاره شد. Radha *et al*. (2010) اظهار داشتند که بازدارندگی

طول ریشه‌چه ناشی از فلزهای سنگین ممکن است به‌دلیل تداخل با تقسیم سلولی، از جمله نقص کروموزومی، میتوز غیرطبیعی و کاهش توسعه سلولی در ناحیه مریستمی باشد. کاهش بیشتر طول ساقه‌چه تحت تأثیر سطوح کادمیوم در مطالعه El Rasafi *et al.* (2016) نیز گزارش شد.

سنجه بنیه بذر[۵]

سنجه بنیه بذر هر سه گونه کاهش معنی‌داری را با افزایش غلظت سولفات مس نشان داد (جدول ۴). در تیمار نیترات سرب، کاهش بنیه بذر گونه‌های *S. marianum* و *L. draba* از سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. به‌طور کلی مس نسبت به سرب کاهش بنیه بذر بیشتری را سبب شد. در بین سه گونه، میزان بنیه بذر تحت تنش مس و سرب در گونه *A. absinthium* < *L. draba* < *S. marianum* بوده است. برای گونه‌های *L. draba* و *S. marianum* تحت تأثیر فلز کادمیوم، کاهش بنیه بذر از غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر آغاز شد اما در گونه *A. absinthium* اگرچه در تیمار شاهد و ۵ میلی‌گرم در لیتر اختلافی مشاهده نشد اما با افزایش غلظت از سطوح ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در لیتر، بنیه بذر کاهش معنی‌دار داشت و در سطح ۳۰ میلی‌گرم در لیتر به کمترین میزان رسید. مقایسه بنیه بذر سه گونه تحت تأثیر کادمیوم گویای حساسیت بیشتر گونه *A. absinthium* به سطوح کادمیوم است (جدول ۴). بنیه بذر در گونه *S. marianum* در همه تیمارها بیشتر از گونه‌های *L. draba* و *A. absinthium* بود. همچنین بیشترین بنیه بذر مربوط به سطوح سرب بوده است. دلیل این امر را می‌توان به اندوخته مناسب بذر نسبت داد که طی جوانه‌زنی، کمتر تحت تأثیر حضور یون‌های فلزی در محیط قرار می‌گیرند (Stefani *et al.*, 1991). این‌طور به نظر می‌رسد که گونه *S. marianum* اندوخته بذر مناسب‌تری دارد. از طرفی این احتمال وجود دارد که در مرحله جوانه‌زنی، غشای بذر گونه‌ها نسبت به سرب قابلیت نفوذ کمتری داشته باشد (Wierzbicka and Obidzinska, 1998).

ضریب آلومتری[۶]

با افزایش غلظت فلزهای مس، سرب و کادمیوم، نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۴). کاهش ضریب آلومتری در پاسخ به سولفات مس در گونه *L. draba* بیشتر از دو گونه دیگر بود. در تیمار نیترات سرب، برای گونه *L. draba* و *S. marianum* کاهش معنی‌دار ضریب آلومتری به ترتیب از سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آغاز شد (جدول ۴). در پاسخ به غلظت‌های مس و سرب، گونه *S. marianum* ضریب آلومتری بیشتری را نسبت به گونه‌های *L. draba* و *A. absinthium* داشته و در بین هر سه گونه تأثیر منفی مس در میزان کاهش این صفت نسبت به عنصر سرب شدیدتر بود. در مورد کادمیوم اگرچه گونه *A. absinthium* تا سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر دارای ضریب آلومتری بیشتری نسبت به دو گونه دیگر بود اما در غلظت‌های بالاتر گونه *S. marianum* ضریب آلومتری بالاتری داشت (جدول ۴). همچنان که با افزایش سطح فلزها از طول ریشه‌چه کاسته می‌شود، بویژه در غلظت‌های بالاتر طول ساقه‌چه بیشتر شده و در نتیجه نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه (ضریب آلومتری) کاهش می‌یابد (El Rasafi *et al.*, 2016)، که در این تحقیق نیز مشاهده شد. در تیمارهای نیترات سرب و سولفات مس ضریب آلومتری گونه *L. draba* < *A. absinthium*< *S. marianum* بوده اما در تیمار نیترات کادمیوم تا سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، گونه *A. absinthium* و در غلظت‌های بالاتر گونه‌های *L. draba* و *S. marianum* دارای نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه بیشتری بودند.

جدول ۴- میانگین سنجه بنیه بذر و ضریب آلومتری *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 4. Average of seed vigor and allometric index for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* in different concentrations of Cu, Pb and Cd

فلز Metal	گونه Species	سنجه بنیه بذر (Vigor index)					ضریب آلومتری (Allometric index)				
		تیمارها Treatments					تیمارها Treatments				
		0	50	100	200	300	0	50	100	200	300
مس (Cu)	*A. absinthium*	311.53^{a}	70.55^{b}	27.74^{c}	13.05^{d}	9.05^{e}	4.31^{a}	1.68^{b}	0.58^{c}	0.48^{c}	0.66^{c}
	L. draba	667.73^{a}	262.54^{b}	110.33^{c}	67.72^{d}	42.01^{e}	1.11^{a}	0.20^{b}	0.20^{b}	0.19^{b}	0.22^{b}
	S. marianum	2001.54^{a}	1022.93^{b}	502.7^{c}	250.86^{d}	167^{e}	3.66^{a}	3.26^{a}	1.28^{b}	0.75^{c}	0.32^{d}
سرب (Pb)	*A. absinthium*	311.53^{a}	217.92^{b}	150.49^{c}	86.88^{d}	61.74^{e}	4.31^{a}	3.38^{b}	2.45^{c}	1.46^{d}	0.64^{e}
	L. draba	667.73^{a}	622.44^{a}	509.21^{b}	386.37^{c}	312.75^{d}	1.11^{a}	1.04^{a}	0.72^{b}	0.43^{c}	0.30^{c}
	S. marianum	2001.54^{a}	1830.73^{a}	1240.37^{b}	1174.96^{b}	928.42^{b}	3.66^{a}	3.57^{a}	2.54^{ab}	1.96^{bc}	1.63^{c}
		تیمارها Treatments									
		0	5	10	20	30	0	5	10	20	30
کادمیوم (Cd)	*A. absinthium*	311.53^{a}	242.44^{a}	97.14^{b}	13.35^{c}	2.78^{d}	4.31^{a}	4.51^{a}	1.55^{b}	0.60^{c}	0.50^{c}
	L. draba	667.73^{a}	535.55^{b}	440.45^{c}	343.87^{d}	79.14^{e}	1.11^{a}	0.74^{b}	0.67^{b}	0.51^{c}	0.46^{c}
	S. marianum	2001.54^{a}	804.78^{b}	585.71^{c}	317.39^{d}	183.89^{e}	3.66^{a}	1.97^{b}	1.30^{c}	1.02^{c}	0.68^{d}

سنجه تحمل بذر و درصد سمیت گیاهی[۷]

سنجه تحمل بذر با افزایش سطوح فلزهای مس، سرب و کادمیوم، به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۵). با توجه به غلظت‌های مشابه سولفات مس و نیترات سرب، در بین تمامی سطوح میزان تحمل به تنش *L. draba* < *A. absinthium* < *S. marianum* بود (جدول ۵). همچنین به‌طور کلی سنجه تحمل بذر گونه‌ها به تنش سرب بیشتر از مس بود. در پاسخ به کادمیوم، تنها در سطح ۵ میلی‌گرم در لیتر میزان سنجه تحمل بذر گونه *A. absinthium* بالاتر بوده و با افزایش غلظت‌ها بیشترین میزان سنجه تحمل بذر در گونه *L. draba* بوده است (جدول ۵).

در همه تیمارها با افزایش غلظت، میزان سمیت گیاهی افزایش یافت. در بررسی تیمارهای سولفات مس و نیترات سرب، در تمامی غلظت‌ها کمترین و بیشترین میزان سمیت مربوط به گونه‌های *S. marianum* و *A. absinthium* بود. به‌طور کلی سمیت ناشی از مس در هر سه گونه بیشتر از سرب بود. تحت تنش کادمیوم، گونه *A. absinthium* در غلظت‌های بیش از ۵ میلی‌گرم در لیتر موجب سمیت بالایی شد. همچنین سمیت کادمیوم برای گونه *L. draba* کمتر از گونه *S. marianum* بود (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین سنجه تحمل و درصد سمیت گیاهی برای *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* در غلظت‌های مختلف مس، سرب و کادمیوم

Table 5. Average of tolerance index and phytotoxicity percentage for *A. absinthium*, *L. draba* and *S. marianum* in different concentrations of Cu, Pb and Cd

درصد سمیت (Phytotoxicity percentage)				شاخص تحمل (درصد) (Tolerance index)				گونه Species	فلز Metal
تیمارها Treatments									
300	200	100	50	300	200	100	50		
98.33^{a}	98.15^{a}	95.92^{a}	81.73^{b}	1.67^{c}	1.80^{c}	4.08^{b}	17.69^{a}	*A. absinthium*	مس (Cu)
97.48^{a}	96.52^{ab}	94.67^{b}	87.54^{c}	2.50^{d}	3.48^{c}	5.28^{b}	12.35^{a}	*L. draba*	
97.09^{a}	93.45^{a}	81.76^{a}	48.95^{b}	2.85^{d}	6.38^{c}	17.86^{b}	49.78^{a}	*S. marianum*	
90.34^{a}	78.83^{a}	57.65^{b}	32.88^{c}	9.47^{d}	21.26^{c}	42.24^{b}	66.48^{a}	*A. absinthium*	سرب (Pb)
78^{a}	65.27^{a}	38.79^{a}	7.70^{b}	21.99^{d}	34.70^{c}	59.94^{b}	90.07^{a}	*L. draba*	
60.85^{a}	47.04^{a}	37.63^{a}	4.9^{b}	38.48^{b}	50.84^{b}	57.21^{b}	92.51^{a}	*S. marianum*	
تیمارها Treatments									
30	20	10	5	30	20	10	5		
98.54^{a}	95.76^{a}	74.20^{a}	13.66^{b}	1.44^{d}	4.02^{c}	25.43^{b}	82.60^{a}	*A. absinthium*	کادمیوم (Cd)
92.17^{a}	65.13^{ab}	48.50^{bc}	31.87^{c}	7.74^{c}	34.52^{b}	50.49^{a}	64.65^{a}	*L. draba*	
94.22^{a}	88.69^{ab}	77.62^{b}	64.66^{c}	5.68^{d}	11.27^{c}	22.12^{b}	33.76^{a}	*S. marianum*	

از آنجا که مهار کشیدگی ریشه اولین اثر قابل مشاهده سمیت فلزها است، طول ریشه‌چه می‌تواند به‌عنوان سنجه‌ای مهم برای میزان تحمل استفاده شود (Han *et al*., 2007). در بررسی سنجه تحمل، با افزایش سطح‌های فلزها، میزان تحمل گونه‌های *A. absinthium*، *L. draba* و *S. marianum* کاهش یافت. اما با توجه به سطح‌های مشابه مس و سرب، گونه *A. absinthium* کمترین میزان تحمل را نسبت به گونه‌های *S. marianum* و *L. draba* داشت و گونه *S. marianum* دارای تحمل بالایی بود. از طرفی در هر سه گونه مس در مقایسه با سرب در تمامی سطوح میزان تحمل کمتری را سبب شده بود و سمیت بیشتری را برای این گونه‌ها ایجاد کرد. به‌طور کلی، سرب متعلق به گروهی از فلزها با حداقل تحرک است. تحرک کم این فلز با افزایش اسیدیته افزایش می‌یابد. دسترسی محدود سرب برای گیاهان سمیت کمتری را نسبت به مس و کادمیوم به‌همراه دارد (Golubovic Curge *et al*., 2012). تحمل سرب به ظرفیت گیاهان برای محدود کردن سرب در دیواره‌های سلولی، سنتز اسمولیت‌ها و فعالسازی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود (Sharma and Dubey, 2005).

کاهش میزان تحمل و افزایش درصد سمیت بویژه در غلظت‌های بالای کادمیوم در گونه *A. absinthium* بیشتر از گونه‌های *L. draba* و *S. marianum* بوده است و گونه *L. draba* حساسیت کمتری به کادمیوم داشت. توزیع فلزها در گیاه می‌تواند عاملی در میزان تحمل آن باشد. Vogel- (2007) Mikus *et al*. در بررسی توزیع فلزها در گیاه *Thlaspi praecox* دریافتند که بیشترین تجمع کادمیوم و مس در ریشه‌چه بوده است. Mahmood *et al*. (2005) تمرکز و تجمع بیشتر مس در ریشه را دلیلی بر سمیت بیشتر آن برشمردند. Ebrahimi and Madrid Diaz (2014) گزارش دادند که سنجه‌های رشد و تحمل گونه *Festuca ovina* تحت تأثیر مس به شدت کاهش یافت. حلالیت بالای کادمیوم در آب می‌تواند عاملی در سمیت بالای آن باشد (Pinto *et al*., 2004). سمیت گیاهی کادمیوم در بافت‌های سلولی گیاهان موجب اثرهای منفی بر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شده و در نهایت کاهش درصد جوانه‌زنی، کاهش سرعت جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها، کاهش میزان کلروفیل، کاروتنوئید و فتوسنتز را در پی دارد (Mahmood *et al*., 2005). به‌طور کلی نوع گونه گیاهی و

عنصر فلزی می‌تواند در بروز سمیت فلز بر جوانه‌زنی متفاوت باشد (Kranner and Colville, 2011). برخی گیاهان قادرند در غلظت‌های بالاتر فلزها جوانه بزنند که برای دیگر گونه‌ها سمی هستند (Kranner and Colville, 2011). نتایج مقایسه میزان تحمل و سمیت فلزها برای سه گونه گویای این موضوع بوده که گونه *A. absinthium* تنها در سطح ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مس و ۵ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم شرایط مطلوب‌تری داشته و در سطوح بالاتر گونه *L. draba* توانسته تحمل بالاتری را نسبت به سمیت این فلزها داشته باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شرایط سخت در باطله‌های معدنی، بقا و زنده‌مانی گونه‌های گیاهی به توانایی جوانه‌زنی آن‌ها در این محیط‌ها بستگی دارد. بررسی‌های ویژگی‌های جوانه‌زنی به‌عنوان یک ابزار غربالگری اولیه در انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم بویژه تحت تنش فلزهای سنگین است (Hatamzadeh *et al*., 2012; Aflaki *et al*., 2017). ارزیابی ویژگی‌های جوانه‌زنی برای گونه‌های کاندید در گیاه‌پالایی یا احیاء پوشش گیاهی در محیط‌های آلوده متداول است (Delgado- 2017; Bezini *et al*. 2019; Caballero *et al*.). در تحقیق حاضر به گیاهان بومی که دارای منابع بذر در منطقه بوده و توانایی رویش طبیعی در باطله زغال سنگ را دارند، پرداخته شد. جوانه‌زنی بذر هر سه گونه گیاهی تحت تأثیر غلظت فلزهای سنگین قرار گرفت که میزان اثر با توجه به نوع گیاه و نوع فلز و غلظت آن متفاوت بوده است. در مقایسه غلظت‌های برابر، اثر منفی مس بر جوانه‌زنی بیشتر از سرب بود. گونه *S. marianum* در تیمار مس، *A. absinthium* در تیمار سرب و گونه *L. draba* در تنش کادمیوم دارای درصد و سرعت جوانه‌زنی مطلوب‌تری بودند. کادمیوم در سطوح کم دارای بازدارندگی کمتری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بوده اما در غلظت بالاتر اثرهای منفی آن بیشتر بوده است. بیشترین سنجه بنیه مربوط به گونه *S. marianum* بوده که گویای توانایی بالاتر بذر این گونه برای جوانه‌زنی است (Abdul-Baki and Anderson, 1973). نسبت به تیمارهای بررسی شده ویژگی‌های جوانه‌زنی گونه *L. draba* < *A. absinthium* < *S. marianum* بوده و از نظر میزان تحمل نیز گونه *S. marianum* تحمل بالاتری را نسبت به مس و سرب و گونه *L. draba* حساسیت کمتری را نسبت به کادمیوم داشت. گیاهان مورد بررسی می‌توانند کاندید مهمی در برنامه‌های احیاء پوشش گیاهی در باطله‌های زغال سنگ منطقه باشند چون هم توانایی جوانه‌زنی در غلظت‌های بالای فلزهای سنگین را داشته و هم شواهدی از استقرار طبیعی آن‌ها در منطقه که با تولید بذر تشکیل بانک بذر در باطله‌ها را هم دادند (Namjooyan *et al*., 2019) وجود دارد. در ادامه این تحقیق پرداختن به تحمل این گیاهان به تنش فلزهای سنگین در مرحله پس از جوانه‌زنی و همچنین میزان گیاه‌پالایی آن‌ها و حتی استفاده از تیمارهای اصلاح کننده که در مطالعات احیاء زمین‌های معدنی در دنیا مرسوم است، توصیه می‌شود.

پی‌نوشت‌ها

[1] Kolmogorov-Smirnov test
[2] Least significant difference
[3] Seed germination percentage and germination rate
[4] Radicle and plumule length
[5] Seed vigor index
[6] Allometric index
[7] Tolerance index and phytotoxicity percentage

منابع

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science. 13(6), 630-633.

Abraham, K., Sridevi, R., Suresh, B. and Damodharam, T., 2013. Effect of heavy metals (Cd, Pb, Cu) on seed germination of *Arachis hypogeae* L. Asian Journal of Plant Science and Research. 3(1), 10-12.

Aflaki, F., Sedghi, M., Pazuki, A. and Pessarakli,

M., 2017. Investigation of seed germination indices for early selection of salinity tolerant genotypes: A case study in wheat. Emirates Journal of Food and Agriculture. 29(3), 222-226.

Agraval, R.L., 2005. Seed Technology. Oxford and IBH Publishing Company, UK.

Ahmadiyan, E. and Motesharezade, B., 2016. Study heavy metals concentration changes and ecological index pollution soils around charcoal mine Geland-roud Mazandaran Province. Journal of Land Management. 3(2), 73-81. (In Persian with English abstract).

Ahsan, N., Lee, D.G., Lee, S.H., Kang, K.Y., Lee, J.J., Kim, P.J., Yoon, H.S. Kim, J.S. and Lee, B.H., 2007. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. Chemosphere. 67(6), 1182-1193.

Ali, H., Khan, E. and Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. Chemosphere. 91(7), 869-881.

Benavides, M.P., Gallego, S.M. and Tomaro, M.L., 2005. Cadmium toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(1), 21-34.

Bezini, E., Abdelguerfi, A., Nedjimi, B., Touati, M., Adli, B. and Yabrir, B., 2019. Effect of some heavy metals on seed germination of *Medicago arborea* L. (Fabaceae). Agriculturae Conspectus Scientificus. 84(4), 357-364.

Blowes, D.W., Ptacek, C.J., Jambor, J.L., Weisener, C.G., Paktunc, D., Gould, W.D. and Johnson, D.B., 2014. The geochemistry of acid mine drainage. In: Holland, H.D. and Turekian, K.K. (Eds.), Treatise on Geochemistry. Elsevier, Oxford, UK. pp. 131–190.

Boi, M.E., Porceddu, M., Cappai, G., De Giudici, G. and Bacchetta, G., 2020. Effects of zinc and lead on seed germination of *Helichrysum microphyllum* subsp. tyrrhenicum, a metal-tolerant plant. International Journal of Environmental Science and Technology. 17, 1917–1928.

Chiapusio, G., Sanchez, A.M., Reigosa, M.J., Gonzalez, L. and Pellissier, F., 1997. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on the germination process? Journal of Chemical Ecology. 23(11), 2445-2453.

Chou, C.H. and Lin, H.J., 1976. Autointoxication mechanism of *Oryza sativa* I. Phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. Journal of Chemical Ecology. 2(3), 353-367.

da Silva, E., Guilherme, M.F.S., Oliveira, H.M., Araujo, L.N.C.P., Viana, Z.C.V. and Santos, V.L.C.S., 2017. Ecotoxicological effects of cadmium on the germination and initial development of *Schinus terebinthifolius*. Revista de Ciencias Agrarias. 40(2), 311-318.

Delgado-Caballero, M.D.R., Alarcon-Herrera, M.T., Valles-Aragon, M.C., Melgoza-Castillo, A., Ojeda-Barrios, D.L. and Leyva-Chavez, A., 2017. Germination of *Bouteloua dactyloides* and *Cynodon dactylon* in a multi-polluted soil. Sustainability. 9, 1-9.

Ebrahimi, M. and Madrid Diaz, F., 2014. Use of *Festuca ovina* L. in chelate assisted phytoextraction of copper contaminated soils. Journal of Rangeland Science. 4(3), 171-182. (In Persian with English abstract).

El Rasafi, T., Nouri, M., Bouda, S. and Haddioui, A., 2016. The effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean. Ekologia (Bratislava). 35(3), 213-223.

Farias, J.G., Antes, F.L., Nunes, P.A., Nunes, S.T., Schaich, G., Rossato, L.V., Miotto, A., Girotto, E.,

Tiecher, T.L., Dressler, V.L. and Nicoloso, F.T., 2013. Effects of excess copper in vineyard soils on the mineral nutrition of potato genotypes. Food and Energy Security. 2(1), 49-69.

Golubovic Curge, V., Raicevic, V., Veselinovic, M., Tabakovic-Tosic, M. and Vilotic, D., 2012. Influence of heavy metals on seed germination and growth of *Picea abies* L. Karst. Polish Journal of Environmental Studies. 21(2), 353-359.

Han, Y.L., Yuan, H.Y., Huang, S.Z., Guo, Z., Xia, B. and Gu, J., 2007. Cadmium tolerance and accumulation by two species of Iris. Ecotoxicology. 16, 557-563.

Hatamzadeh, A., Sharaf, A.R.N., Vafaei, M.H., Salehi, M. and Ahmadi, G., 2012. Effect of some heavy metals (Fe, Cu and Pb) on seed germination and incipient seedling growth of *Festuca rubra* ssp. commutate (Chewings fescue). International Journal of Agriculture and Crop Science. 4, 1068-1073.

Iqbal, M.Z. and Rahmati, K., 1992. Tolerance of *Albizia lebbeck* to Cu and Fe application. Ekologia. 11(4), 427-430.

Iqbal, M.Z. and Shazia, Y., 2004. Reduction of germination and seedling growth of *Leucaena leucocephala* caused by lead and cadmium individually and in combinations. Ekologia (Bratislava). 23(2), 162-168.

ISTA. 2017. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf.

Jamalloo, F. and Ghorbani Ghomi, T., 2015. Study of morphology and Pollen grain *Cardaria draba* (L.) DESV. of Brassicaceae in Iran. Journal of Environmental Science and Technology, 16(1): 647-653. (In Persian with English abstract).

Kabata-Pendias, A., 2000. Trace Elements in Soils and Plants. CRC press, Boca Raton.

Khajeh-Hosseini, M., Powell, A.A. and Bingham, I.J., 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soyabean seeds. Seed Science and Technology. 31(3), 715-725.

Ko, K.S., Lee, P.K. and Kong, I.C., 2012. Evaluation of the toxic effects of arsenite, chromate, cadmium, and copper using a battery of four bioassays. Applied Microbiology and Biotechnology. 95(5), 1343-1350.

Kranner, I. and Colville, L., 2011. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. Environmental and Experimental Botany. 72(1), 93-105.

Lashgari, N., Ghorbani, J., Zali, S.H. and Vahabzadeh, G.H., 2016. Assessing the vegetation restoration potential on coal mine waste (Case study: Karmozd Savadkoh mines, Mazandaran province). Journal of Environmental Studies. 41(76), 757-770. (In Persian with English abstract).

Lashgari, N., Ghorbani, J., Zali, S.H. and Vahabzadeh, G.H., 2017. Soil properties and level of heavy metals in coal wastes and their association with plant establishment (Case study: coal mine of Karmozd Svadkoh, Mazandaran province). Journal of Natural Environment. 69(4), 1091-1108. (In Persian with English abstract).

Lefevre, I., Marchal, G., Correal, E., Zanuzzi, A. and Lutts, S., 2009. Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. Plant Growth Regulation. 59(1), 1-11.

Li, W., Khan, M.A., Yamaguchi, S. and Kamiya,

Y., 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. Plant Growth Regulation. 46(1), 45-50.

Mahmood, S., Hussain, A., Saeed, Z. and Athar, M., 2005. Germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under varying levels of copper and zinc. International Journal of Environmental Science and Technology. 2(3), 269-274.

Masto, R.E., George, J., Rout, T.K. and Ram L.C., 2017. Multi element exposure risk from soil and dust in a coal industrial area. Journal of Geochemical Exploration. 176, 100-107.

McKenna, D.J., Jones, K. and Hughes, K., 2002. Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements. Haworth Press, Binghamton, New York.

Mihoub, A., Chaoui, A. and El Ferjani, E., 2005. Biochemical changes associated with cadmium and copper stress in germinating pea seeds (*Pisum sativum* L.). Comptes Rendus Biologies. 328(1), 33-41.

Monaci, F., Trigueros, D., Mingorance, M.D. and Rossini-Oliva, S., 2019. Phytostabilization potential of *Erica australis* L. and *Nerium oleander* L.: a comparative study in the Riotinto mining area (SW Spain). Environmental Geochemistry and Health. 42, 2345-2360.

Mozaffarian, V.A., 2008. Flora of Iran: The Family of Asteraceae, First ed., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.

Namjooyan, R., Ghorbani, J., Heydari, GH.A. and Vahabadeh, G.H., 2019. Presence of rangeland plant species in the seed bank of coal waste and surrounding rangelands in Karmozd-Savad kouh and Kiasar-Sari coal mines in Mazandaran province. Journal of Range and Watershed Management. 72(2), 587-596. (In Persian with English abstract).

Peto, A., Lehotai, N., Lozano-Juste, J., Leon, J., Tari, I., Erdei, L. and Kolbert, Z., 2011. Involvement of nitric oxide and auxin in signal transduction of copper-induced morphological responses in Arabidopsis seedlings. Annals of Botany. 108(3), 449-457.

Pietrini, F., Iannelli, M.A., Pasqualini, S. and Massacci, A., 2003. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. Plant Physiology. 133(2), 829-837.

Pinto, A.P., Mota, A.M., de Varennes, A. and Pinto, F.C., 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. Science of the Total Environment. 326, 239–247.

Prach, K., Bartha, S., Joyse, B., Pysek, P., Van Diggelen, R. and Wiegleb, G., 2001. The role of spontaneous vegetation succession in ecosystem restoration: A perspective. Applied Vegetation Science. 4(1), 111-114.

Radha, J., Srivastava, S., Solomon, S., Shrivastava, A.K. and Chandra, A., 2010. Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). Acta Physiologiae Plantarum. 32(5), 979-986.

Saberi, M. and Karimian, V., 2019. Effects of chemical stimulators to development, support and resistant of *Datura Stramonium* medicinal plant under stress allelopathic components of *Eucalyptus camaldulensis*. Journal of Rangeland. 12(4), 401-410. (In Persian with English abstract).

Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(1), 35-52.

Soltani, A., 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coast of Iran. Seed Science and Technology. 29, 653-662.

Stefani, A., Arduini, I. and Onnis, A., 1991. *Juncus acutus*: germination and initial growth in presence of heavy metals. Annales Botanici Fennici. 28(1), 37-43.

Tatian, M.R., Tamartash, R., Heshmati, S. and Saeedi Garaghani, H.R., 2014. A study of *Secale montanum* seed response to stress caused by Pb and Cu pollutant elements. Journal of Natural Environment. 66(4), 389-397. (In Persian with English abstract).

Thounaojam, T.C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G.D., Sahoo, L. and Sanjib, P., 2012. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. Plant Physiology and Biochemistry. 53, 33-39.

Trofimova, T.A., Hossain, A. and da Silva, J.A.T., 2012. The ability of medical halophytes to phytoremediate soil contaminated by salt and heavy metals in Lower Volga, Russia. The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. 6(1), 108-114.

Vogel-Mikus, K., Pongrac, P., Kump, P., Necemer, M., Simcic, J., Pelicon, P., Budnar, M., Povh, B. and Regvar, M., 2007. Localisation and quantification of elements within seeds of Cd/Zn hyperaccumulator *Thlaspi praecox* by micro-PIXE. Environmental Pollution. 147(1), 50-59.

Wani, P.A., Khan, M.S. and Zaidi, A., 2012. Toxic effects of heavy metal on germination and physiological processes of plants. In: Zaidi, A., Wani, P.A. and Khan, M.S. (Eds.), Toxicity of Heavy Metal to Legumes and Bioremediation. Springer, Verlag, Vienna, pp. 45-66.

Wierzbicka, M. and Obidzinska, J., 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. Plant Science. 137(2), 155-171.

Environmental Sciences Vol.20 / No.1 / Spring 2022

179-198
Original Article

Seed germination of plants grown in coal mine wastes in response to copper, lead, and cadmium stress

Nateq Lashkari Sanami,[1] Jamshid Ghorbani,[1*] Seyed Mohammad Hodjati,[2] Ghorban Vahabzadeh[3] and Babak Motesharezadeh[4]

[1] Department of Range Management, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[2] Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[3] Department of Watershed Management, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University Sari, Iran
[4] Department of Soil Science Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj, Iran

Received2021.04.14 Accepted: 2021.06.01

Lashkari Sanami, N., Ghorbani, J., Hodjati, S.M., Vahabzadeh, Gh. And Motesharezadeh, B., 2022. Seed germination of plants grown in coal mine wastes in response to copper, lead, and cadmium stress. Envirinmental sciences. 20(1): 179-198.

Introduction: Mining activities causes substantial damage to the environment worldwide. Abandoned mine wastes from mining activities limit the growth of plants due to unfavorable conditions and the concentration of a wide range of heavy metals. Identifying plant species growing on mine waste and assessing their seed germinations are important for vegetation restoration on mining areas. This study aimed at assessing the germination characteristics of *Artemisia absinthium*, *Lepidium draba*, and *Silybum marianum* naturally growing on coal mine wastes in Mazandaran Province under different concentrations of copper (Cu), lead (Pb), and cadmium (Cd).

Material and methods: Seeds were collected from plants growing in coal wastes during 2 years. Completely randomized design was conducted with three replicates. Treatments were $CuSO_4$ and $Pb(NO_3)_2$ at 0 (control), 50, 100, 200, and 300 mg/L, and $Cd(NO_3)_2$ at 0 (control), 5, 10, 20, and 30 mg/L. In each replicate 20 seeds were placed in a Petri dish containing a layer of filter paper. Then treatments were applied and Petri dishes were taken to a germinator under controlled temperature, moisture, and light. Germinated seeds were counted daily and then germination percentage, germination rate, allometric coefficient, seed vigor index, phytotoxicity percentage and seed tolerance index were calculated.

[*] Corresponding Author: *Email Address*. J.ghorbani@sanru.ac.ir

Results and discussion: The results showed that increasing the concentration of Pb, Cu and Cd significantly affected the seed germination of studied plants. *S. marianum* had better germination percentage and rate in lead, and copper while germination of *A. absinthium, L. draba*, was better in Cd and Cu respectively. The greatest reduction in germination percentage was found for *A. absinthium* in 20 and 30 mg/L Cd. As the concentration of metals increased, significant reduction in germination percentage and rate for *A. absinthium* started in lower concentrations than other species. Root and shoot length of all species was significantly reduced even in low concentration of metals and *S. marianum* had greater root and shoot length under all treatments. Reduction in seed vigor index was greater under Cu than that in Pb and Cd. High tolerance index was found for *L. draba* in response to Cd and for *S. marianum* under the stress of Pb and Cu. In all treatments, an increase in metal concentration significantly increased the phytotoxicity index. Under Cu and Pb *S. marianum* showed the least phytotoxicity index, while the lowest phytotoxicity index was found for *L. draba* under Cd stress. Cu and Cd in high concentration were more toxic for *A. absinthium* than that for the other two species. Under similar concentrations of Cu and Pb, all species showed reduced germination in copper stress. Cd in lower concentrations were tolerable for plants but generally it had the greatest inhibition especially on *A. absinthium*.

Conclusion: Overall the responses were different regarding the plant species, metal and concentrations. All three species were able to germinate at high concentrations of heavy metals. The presence of these species in coal wastes and their ability to germinate in high concentrations of heavy metals makes it possible to use these plants in future restoration and phytoremediation programs.

Keywords: Heavy metal, Mine waste, Phytoremediation, Plant phytotoxicity, Seed vigor.