



## اثر روی ( $Zn^{2+}$ ) و با و بدون نیتروپروساید سدیم $Na^{2+}(Fe(CN)5NO)^{2-}$ بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی کاج الدار (*Pinus eldarica Medw*)

طاهره آبتین<sup>۱</sup>، جواد میرزایی<sup>۲</sup>، اصغر مصلح آرائی<sup>۳</sup>، حمید رضا عظیم زاده<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۵

### چکیده

اگرچه روی یک عنصر ضروری برای گیاهان است ولی غلظت بالای آن سمی است و منجر به اختلالات عملکردی و ساختاری می‌شود. بدین منظور غلظت‌های متفاوت روی صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و اثر تیمار همزمان روی به همراه مقدار ثابتی (۷۵۰ میلی‌گرم) از نیتروپروساید سدیم (SNP) در سال ۹۱-۹۲ در نهالستان شهرستان یزد انجام شد. سپس برخی شاخص‌های مورفولوژی و فیزیولوژیکی کاج الدار اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد میزان تجمع فلز روی در تیمار بدون SNP در سه اندام ریشه، ساقه و برگ به ترتیب با افزایش غلظت تیمارها افزایش می‌یابد، بیشترین تجمع در ریشه (۵۳۸/۸۰ mg/kg) و کمترین تجمع در برگ (۱۰۵/۷۳ mg/kg) دیده شد. کلروفیل a، b، کلروفیل کل، مالون دآلدئید و پرولین تغییر معنی‌داری نداشت، اما میزان قندهای محلول در ریشه و برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در تیمار همزمان روی و SNP نیز با افزایش غلظت روی در خاک میزان آن در ریشه، ساقه و برگ بصورت معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین مقدار در ریشه (۶۶۲/۳۶ mg/kg) و کمترین مقدار در برگ (۴۶/۱۶ mg/kg) دیده شد. افزایش غلظت روی در این تیمار باعث افزایش معنی‌داری میزان پرولین و مالون دآلدئید در برگ شد. بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت کاج الدار به دلیل مقاومت خوب آن در غلظت ۴۰۰ ml/l در هر دو تیمار، بدون مشاهده هیچ‌گونه اثر منفی و جدی بر روی فاکتورهای مهم رشدی آن و همچنین توانایی تجمع بیشتر روی در ریشه‌ها نسبت به بخش‌های هوایی می‌توان از آن به عنوان گونه تثبیت کننده برای پاک‌سازی خاک‌های مناطق آلوده به روی استفاده کرد. همچنین پیشنهاد می‌شود جهت تعیین بالاترین حد آستانه تجمع روی این گونه در غلظت‌های بالاتر نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اختلالات رشدی، کاج الدار، کلروفیل، گیاه پالایی، مالون دآلدئید

آبتین، ط، ج. میرزایی، ا. مصلح آرائی و ح. ر. عظیم زاده. ۱۳۹۶. اثر روی ( $Zn^{2+}$ ) و با و بدون نیتروپروساید سدیم  $Na^{2+}(Fe(CN)5NO)^{2-}$  بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی کاج الدار (*Pinus eldarica Medw*). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۰: ۲۲۴-۲۱۴.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

۲- گروه علوم جنگل، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران - مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: j.mirzaei@mail.ilam.ac.ir

۳- دانشیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

## مقدمه

از آغاز انقلاب صنعتی، آلودگی بیوسفر توسط فلزات سنگین افزایش یافته است. در میان منابع مختلف آلوده کننده، صنایع ذوب فلزات تا حد زیادی به آلودگی خاک‌ها کمک کرده است. اگرچه روی یک عنصر ضروری برای گیاهان است ولی غلظت بالای آن سمی است و منجر به اختلالات عملکردی و ساختاری می‌شود (مارشتر، ۱۹۹۵). ارزش حیاتی عنصر روی در حدود  $15 \text{ mg/kg}$  برای اکثر محصولات می‌باشد، هر چند در بعضی از شرایط مقدار  $10 \text{ mg/kg}$  نیز می‌تواند کافی باشد (پورخباز و همکاران، ۱۳۹۰). غلظت روی در گیاهان اگر از  $300 \text{ mg/kg}$  بیشتر شود، سمی است (مارشتر، ۱۹۹۵). مهم‌ترین دلیل اثر تخریبی عناصر سنگین این است که این عناصر باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های آزاد سوپراکساید ( $\text{O}_2^-$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل ( $\text{OH}^-$ ) و پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) می‌شود. این رادیکال‌ها به سرعت با DNA، چربی‌ها و پروتئین‌ها واکنش داده و موجب تخریب سلول‌ها می‌گردند. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند سوپر اکساید دسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها و غیره) و غیر آنزیمی (مانند گلوکاتایون، اسکوربات، کاروتنوئیدهای توکو فرار و همچنین پرولین) استفاده می‌کنند (شانتی و دیز، ۲۰۰۶). مکانیسم‌های بیوشیمیایی در گیاهان شامل انواع تغییرات از جمله تولید پرولین، بتائین، گلاسیسین، قند محلول، آنزیم مالون دآلدئید در سلول می‌باشد (بودار و همکاران، ۲۰۰۶). اسمولیت‌هایی مانند پرولین نقش مهمی را در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند و همچنین از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن ( $\text{ROS}$ ) از سلول‌ها محافظت می‌کنند (ردی، ۲۰۰۴). تحقیقات متعددی در زمینه نقش کربوهیدرات‌های محلول (مانند قندهای محلول) و افزایش آن‌ها تحت شرایط تنش‌های گوناگون صورت پذیرفته است که همگی بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی سلول دلالت دارند (وو و گارج، ۲۰۰۳). مالون دآلدئید مهمترین شاخص پراکسیداسیون لیپید است که گیاهان تحت تنش و سمیت ناشی از آن تولید می‌کنند. دی و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی آسیب اکسیداتیو آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیسم پرولین ناشی از پاسخ به تنش فلز روی، در ریشه و برگ‌های گیاه گندم نشان دادند که افزایش روی باعث اندکی افزایش در مقدار پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) شده است. همچنین در مقدار مالون دآلدئید نیز تغییری ایجاد نشده است ولی به‌طور قابل توجهی میزان قندهای محلول و پرولین در برگ و ریشه گیاه گندم تحت تنش روی افزایش یافته است. فلزات سنگین همچنین

باعث افزایش میزان کل قندهای محلول و پروتئین‌ها در گیاهان شده است، و این اثرات در شاخه نسبت به ریشه‌ها بیشتر بوده است (ورما و دویی، ۲۰۰۱). برخی از محققان معتقدند که نیتریک اکساید یک عامل ایجاد تنش است (لشون، ۱۹۹۶). برخی دیگر نقش‌های حفاظتی آن را در برابر تنش‌ها گزارش کرده‌اند (هسو و کاو، ۲۰۰۴). (رئسی و همکاران ۱۳۸۸) در بررسی اثر متقابل SNP و مس بر برخی از پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه شاهی نشان دادند که تیمار SNP باعث افزایش محتوای کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها شد، همچنین موجب کاهش معنی‌دار آلدئیدهای اندام هوایی در تمامی غلظت‌های سمی مس و کاهش مالون دآلدئید اندام هوایی و ریشه و سایر آلدئیدهای ریشه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار شد. نتیجه آنکه غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار SNP اثر مطلوبی بر بهبود تنش فلز سنگین مس در گیاه شاهی (*Lepidium Sativum L.*) داشته است. بررسی تغییرات پرولین و قندهای محلول کمک می‌کند تا کارکرد مکانیسم‌های غیرآنزیمی گیاه در مواجهه با عناصر سنگین مشخص شود. غالباً برگ‌های سوزنی شکل کاج به دلیل امکان درک فعال و غیرفعال بافت برگ‌ها مطابق با جو غالباً جهت کنترل زیستی آلودگی هوا بیشترین استفاده را داشته است (میگرنس و همکاران، ۲۰۰۷؛ سان و همکاران، ۲۰۰۹؛ سان و همکاران، ۲۰۱۰، کانگ و همکاران، ۲۰۱۱). سوزن‌های کاج روپوست ضخیمی از یک لایه مومی دارد که این (ویژگی) باعث شده گونه کاج مناسبترین کنترل کننده زیستی و بویژه حساس نسبت به آلودگی محیط زیست باشد (میگرنس و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی تاکنون بیشتر مطالعات گیاه پالایی روی گونه‌های علفی (بدلیل تکثیر سریع) آنها متمرکز شده است و کمتر گونه‌های درختی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. گونه‌ی انتخاب شده از نظر نیازهای اکولوژیکی کم‌نیاز و دارای سرشتی بردبار است. همچنین این گیاهان به دلیل همیشه سبز بودن می‌توانند در امر زیباسازی مناظر پارک‌ها معرفی و استفاده شود. در تحقیق حاضر اثر روی بر میزان پرولین و قندهای محلول در گیاه کاج الدار مورد ارزیابی قرار گرفت. این تحقیق همچنین میزان روی انباشته شده به وسیله ریشه‌ها، ساقه و برگ‌ها در این گونه را برای تعیین توانایی آن جهت گیاه پالایی مورد ارزیابی قرار می‌دهد. در این تحقیق اثر تیمار همزمان نیتروپروساید سدیم (SNP) جهت بررسی نقش احتمالی NO در کاهش صدمات ناشی از تنش فلز روی بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گونه‌ی کاج الدار مورد مطالعه گرفت.

## مواد و روش‌ها

**روش تحقیق:** تعداد ۴۸ نهال دو ساله از گونه کاج الدار با مشخصات مورفولوژیکی یکسان از نظر اندازه، ارتفاع و سن که تحت شرایط یکسان در نهالستان بزرگ یزد واقع در شهر یزد پرورش یافته بودند، تهیه شد. نهال‌ها برای هر تیمار به صورت ۲۴ عدد با شش تکرار در قالب دو آزمایش جداگانه در یک طرح کاملاً تصادفی قرار داده شدند. محلول‌هایی با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از عنصر روی (از نمک  $ZnSO_4$ ) با و بدون مقدار ثابت ۷۵۰ میلی‌گرم نیتروپروساید سدیم ( $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$ ) در قالب دو آزمایش جداگانه تهیه شد. نهال‌ها به مدت ۶۰ روز با فواصل یک روز در میان (فصل بهار) با ۲۰۰ میلی‌لیتر از این محلول‌ها با بشر مدرج آزمایشگاهی (از طریق خاک) آبیاری شدند. بعد از گذشت ۶۰ روز نهال‌ها در اوایل تابستان برداشت شدند. طول ساقه و ریشه نهال‌ها با استفاده از خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. پس از برداشت نهال‌ها وزن تر ساقه، برگ و ریشه و سپس نسبت زیست توده هوایی به زمینی اندازه‌گیری شد.

**سنجش پرولین:** مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر برگ را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص مخلوط کرده و ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم، قرار گرفت. بعد از این مدت، جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط را در حمام یخ، سرد گردید، سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه، ۲ لایه کاملاً مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. سپس مقدار پرولین با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (باتس و همکاران، ۱۹۷۳).

$$Y = 0.0029X + 0.0075 \quad (1) \text{ رابطه}$$

Y: جذب خوانده شده در طول موج

X: غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر

**سنجش قندهای محلول:** برای سنجش قندهای محلول، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی (برگ) اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس

از گذشت یک هفته، ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه برداشته و سپس بر روی آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده و خوب هم‌زده و پس از آن ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. محلول زرد رنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داده و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از ۳۰ دقیقه جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز، میزان تغییرات قندها برای دو گونه مورد مطالعه بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید (کوچرت، ۱۹۷۸).

**سنجش جذب فلز روی:** تعداد ۷۲ نمونه ریشه، ساقه و برگ گونه مورد مطالعه در سه تکرار برداشت شد. ابتدا جهت زدودن آلانینده از سطح برگ و ساقه از آب مقطر و برای زدودن خاک آلوده اطراف ریشه از کلات کننده اتیلن دی آمین تترا اسید استیک و کلرید کلسیم استفاده شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۷۲ درجه سلسیوس در آون خشک شدند. نمونه‌های خشک شده با آسیاب برقی به صورت پودر درآورده شد. سپس ۱ گرم از هر نمونه گیاهی به طور جداگانه در بالن ژوژه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با اضافه نمودن ۲۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند تا نمونه‌های گیاهی به خوبی در اسید حل شوند. پس از آن محلول حاصل را گرم کرده تا بخارهای اسیدی از محلول خارج گردد، سپس محلول مذکور را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده و حجم محلول را با آب مقطر Deionized به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده تا برای تجزیه با دستگاه جذب اتمی آماده شوند. در پایان میزان روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل (novaA300) مورد سنجش قرار گرفتند (کلیک و همکاران، ۲۰۰۵).

**سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء:** ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر اسید تیوباربیتریک در هاون چینی ساییده شد. مخلوط بدست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بلافاصله لوله‌های آزمایشی در یخ خرد شده قرار داده شد. عصاره بدست آمده به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر بر اساس تشکیل کمپلکس تیوباربیتریک اسید - مالون دالدئید خوانده شد. جذب ترکیبات مزاحم نیز در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. غلظت کمپلکس مالون دالدئید- تیوباربیتریک اسید با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد (کلیک و همکاران، ۲۰۰۵).

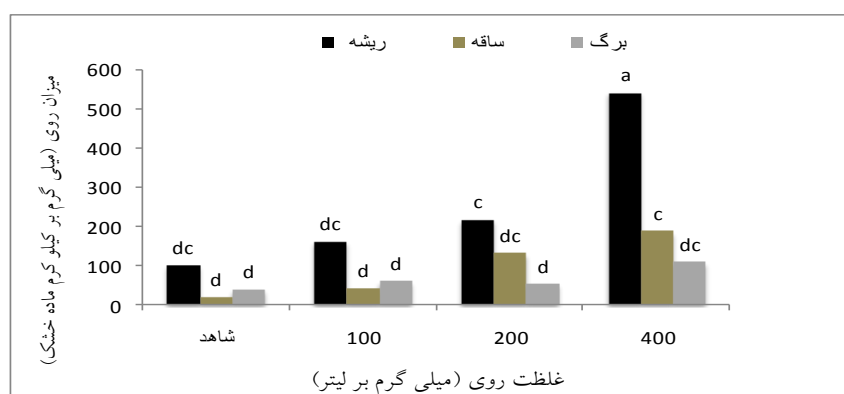
$$\text{رابطه ۲: } A = \epsilon bc$$

A: جذب خوانده شده

رسم نمودار در نرم افزار Excel صورت گرفت. ابتدا نرمالیته داده‌ها توسط آزمون کلموگروف اسمیرنوف بررسی شد، سپس آنالیز واریانس یک طرفه انجام و اختلاف میانگین‌ها با آزمون دانکن ( $\alpha = 0.05$ ) بررسی گردید.

### نتایج و بحث

میزان روی: نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت روی در تیمارها، تجمع آن نیز در ریشه، ساقه و برگ به صورت معنی‌داری افزایش یافت. میزان تجمع روی در ریشه، ساقه و برگ در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۵، ۸ و ۲ برابر افزایش نسبت به شاهد نشان داد. نتایج مقایسه میزان تجمع روی در اندام‌ها نشان‌دهنده روند کاهشی از ریشه تا برگ بود. بیشترین تجمع در ریشه و کمترین تجمع در برگ اندازه‌گیری شد. میزان تجمع روی در ریشه در غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به برگ بطور معنی‌داری بیشتر بود. میزان تجمع روی در ریشه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری بیشتر از ساقه بود (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میزان روی در اندام‌های ریشه، ساقه، برگ کاج الدار تحت تیمار روی. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد

گرم بر لیتر اندازه‌گیری شده است. اما از نظر آماری تنها در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ریشه نسبت به ساقه و برگ اختلاف معنی‌داری داشته است (شکل ۲).

E: ضریب خاموشی (مساوی با 155 mmol-1 cm-1)

b: قطر کووت (مساوی با ۱)

c: غلظت ماده مورد نظر

سنجش رنگی‌های فتوستتزی: محاسبه غلظت کلروفیل

برگ با استفاده از روش لیچنتالر (۱۹۸۷) انجام شد. ۰/۱ گرم از بافت تر برگ وزن و رنگی‌های آن توسط استون ۸۰ درصد استخراج شد. پس از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی، جذب در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر مدل Libra S4 خوانده شد. مقدار کلروفیل a, b با استفاده از رابطه (۳) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، محاسبه شد.

$$C_a = 12/25 A_{663/2} - 2/798 A_{646/8}$$

$$C_b = 21/50 A_{646/8} - 5/10 A_{663/2}$$

C<sub>a</sub>: مقدار کلروفیل a, C<sub>b</sub>: مقدار کلروفیل b می‌باشد.

آنالیز آماری

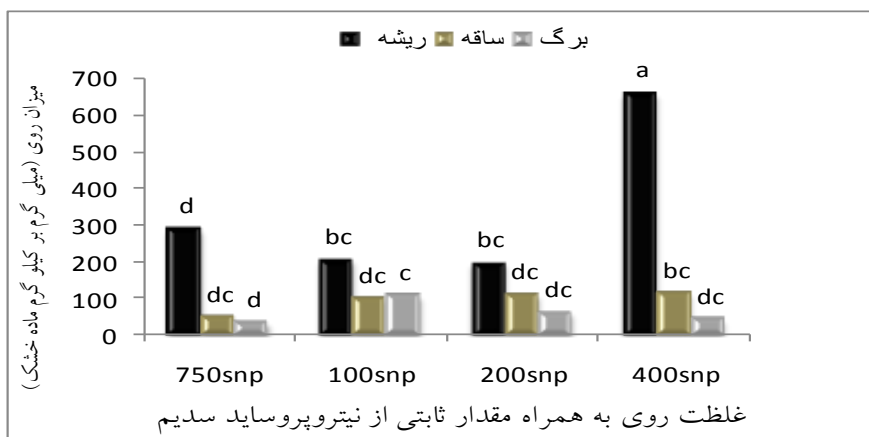
آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی بوده و آنالیز داده‌ها

با استفاده از نرم افزار آماری Spss نسخه ۱۹ انجام شد و

مقایسه میزان انباشت در تیمار همزمان روی و نیترو

پروپوساید سدیم نیز نشان داد، با افزایش غلظت روی میزان

انباشت افزایش یافته و بیشترین مقدار نیز در غلظت ۴۰۰ میلی-



شکل ۲- مقایسه میزان روی در اندام‌های ریشه، ساقه، برگ کاج الدار تحت تیمار همزمان روی و نیترو پرو ساید سدیم. حروف متفاوت نشانه معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵ با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد

ساز)، یون‌های فلزی روی ( $Zn^{2+}$ ) را در سیتوسول یا فضاهای بافت سلولی ذخیره کنند. فضاهای سلولی شامل تجمع بیش از حد روی در واکوئل یا دیواره سلولی است. به نظر می‌رسد تجمع بیشتر عنصر روی در واکوئل و دیواره سلولی و همچنین لزوم عبور توسط ناقل‌های تخصصی برای انتقال به آوندهای چوبی باعث انتقال کمتر آن به قسمت‌های هوایی گونه مورد مطالعه شده و به همین دلیل مقدار این عنصر در ریشه به مراتب بیشتر از اندام‌های هوایی است. در پتانسیل تجمع فلز آلاینده روی ( $Zn$ ) در نهال‌های یکساله نخل زیتنی نشان دادند میزان جذب در اندام‌ها به طور معنی‌داری تحت تاثیر روی قرار گرفتند تجمع روی در ریشه را چند برابر اندام‌های هوایی داشته است (مهدوی و خرمن دار، ۱۳۹۴). طی مطالعه‌ای نشان داده شد، میزان روی جذب شده توسط برگ و ساقه در سه گونه اکالیپتوس کمتر از ریشه های آن است (آساره و همکاران، ۲۰۰۸). (داوری و همکاران، ۱۳۹۰) نشان دادند که غلظت روی در اندام‌های مختلف حرا شامل ریشه ۲۳/۱ تا ۴۶/۱ میلی گرم بر گرم و در برگ از ۷/۱۶ تا ۴۸/۲۹ میلی گرم بر گرم و در رسوب برابر ۴۴/۹۱ تا ۳۰۶/۱۵ میلی گرم بر گرم ماده خشک است. همچنین در ارزیابی آلودگی ناشی از فلزات سنگین موجود در هوا با استفاده از کاج (*Pinus spp*) و نمدار (*Tilia spp*) نشان داد میزان روی در بخش‌های هوایی نمدار و کاج بالاتر از آستانه سمیت روی ( $230 \mu\text{g/g}$  برای بخش هوایی) نبود، برگ‌های کاج ( $30-58 \mu\text{g/g}$ ) نسبت به نمدار ( $3 \mu\text{g/g}$ ) کاج (۵۲-۱۰) بیشترین میزان روی را داشتند، در سایت شماره ۳ کاج نسبت به دیگر غلظت‌ها بیشترین میزان روی ( $350 \mu\text{g/g}$ ) را در

با افزایش غلظت روی میزان تجمع آن در خاک افزایش یافته، بنابراین مقدار بیشتری از عنصر روی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد لذا جذب توسط گیاه و میزان تجمع آن نیز در اندام‌ها با افزایش غلظت روی افزایش می‌یابد. همچنین مقایسه سه اندام مورد بررسی نشان دهنده روند کاهشی مقدار روی از ریشه تا برگ است، به طوری که بیشترین تجمع در ریشه و کمترین تجمع در برگ بوده است. گیاهان روی مورد نیاز خود را عمدتاً از طریق سیستم ریشه‌ای (ریزوسفر) بصورت  $Zn^{2+}$  از خاک دریافت می‌کنند، سپس آن را بصورت ترکیبات آلی در آورده و در نهایت از طریق آوند چوبی به ساقه انتقال می‌دهند (اوجبا و فسیدی، ۲۰۰۴). ریزوسفر توسط ترشحات خود (اسیدهای آلی) و مطابق وزن مولکولی فلزات، آن‌ها را در اطراف خود جمع و یا به سمت خود حرکت می‌دهند (مورل و همکاران، ۱۹۸۶). اسید-های آلی (اگزالیک، تارتاریک، مالیک) معمولاً در ریشه‌های گیاهان حضور دارند. آنها وزن مولکولی کمی دارند و عمدتاً شامل کربن، هیدروژن، اکسیژن و یک یا چند گروه کربوکسیل می‌باشند (جونز، ۱۹۹۸). تحت شرایط کمبود و یا ازدیاد فلز روی، غلظت ترشحات اسیدهای آلی از بافت‌ها برای افزایش زیست‌فراهمی و یا تحمل روی تغییر می‌کند (زو و همکاران، ۲۰۰۷). با افزایش غلظت‌های مختلف روی بیشترین تجمع در ریشه‌ها دیده شده و این تجمع نسبت به ساقه و برگ بیشتر بوده است (دی و همکاران، ۲۰۱۲). این محققین همچنین نشان دادند با افزایش غلظت روی در طول زمان، تجمع میزان اسیدهای آلی (مالیک، اگزالیک و تارتاریک) در ریشه افزایش یافته است. بنابراین اسیدهای آلی می‌توانند به‌عنوان همبندکننده (کیلات

ریشه داشت (سربولا و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج تحقیق حاضر نیز بیانگر تشابه آن با نتایج مطالعات فوق الذکر است. در تیمار بودن SNP کاج در بالاترین غلظت بکار رفته (۴۰۰ ml/l) قادر بوده در اندام ریشه (۵۳۸/۸ mg/kg)، ساقه (۱۸۴/۵۶ mg/kg) و برگ (۱۰۵/۷۳۳ mg/kg) را ذخیره کند. در تیمار SNP نیز

ریشه (۶۶۲/۳۶۶ mg/kg)، ساقه (۱۱۶/۹ mg/kg) و برگ (۴۶/۱۶۶ mg/kg) درخود ذخیره کرده است. شاید بتوان گفت SNP توانسته از طریق ذخیره بیشتر یون روی در ریشه از انتقال آن به بخش‌های هوایی تا حدودی جلوگیری کرده است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برخی از صفات مورفولوژیکی اندام‌های مختلف گونه کاج تحت تیمار یون روی و تیمار همزمان روی و نیتروپروساید سدیم

پارامتر مورد بررسی	منابع تغییرات	میانگین مربعات (MS)	خطا (F)	سطح معنی‌دار (p)
طول ساقه (cm)	روی	۱/۰۹۷	۰/۴۳۹	۰/۷۳
	روی × SNP	۴/۲۵	۲/۰۱۹	۰/۱۱۶
طول ریشه (cm)	روی	۱۱۱/۱۹	۱/۱۰۵	۰/۴۰۲
	روی × SNP	۳۹۱/۵۲	۱/۶۵	۰/۱۹۲
نسبت بیوماس هوایی به زمینی (g)	روی	۰/۰۰۱	۱/۶۴	۰/۲۵۵
	روی × SNP	۰/۰۰۲	۱/۸۳	۰/۱۴۸
نسبت وزن خشک به تر (g)	روی	۰/۱۰۳	۱/۳۱۲	۰/۳۳۶
	روی × SNP	۰/۰۵۳	۱/۸۳	۰/۱۴۸

هوایی به زمینی تاثیر نداشت. طول ساقه فقط در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به غلظت ۲۰۰ بصورت معنی‌داری افزایش نشان داد. کاربرد SNP نیز تاثیری در طول ساقه نداشت (جدول ۳).

پاسخ مورفولوژی و فیزیولوژی نهال‌ها نسبت به تیمار روی و نیتروپروساید سدیم افزایش غلظت روی و تیمار همزمان روی و نیتروپروساید سدیم بر طول ریشه، نسبت وزن خشک به تر، نسبت بیوماس

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین‌های برخی از صفات مورفولوژیکی اندام‌های مختلف گونه کاج تحت تیمار یون روی و تیمار همزمان روی و نیتروپروساید سدیم

فاکتورهای مورد اندازه‌گیری	نوع تیمار	غلظت فلز روی (mg/L)			
		شاهد	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
طول ساقه (cm)	فلز روی	۲۵ab	۲۳/۰۴ ab	۲۲/۱۶b	۲۲/۵۸a
	روی به‌مراه SNP	۲۳/۶۶a	۲۴/۸۳a	۲۳/۶۶a	۲۵/۵۰a
طول ریشه (cm)	فلز روی	۳۶/۶۶a	۶۶/۴۶a	۴۶/۳۳a	۳۵/۳۳a
	روی به‌مراه SNP	۴۶/۳۳a	۷۲a	۴۰/۶۶a	۴۹/۳۳a
نسبت بیوماس هوایی به زمینی (g)	فلز روی	۱/۵۹a	۱/۲۶a	۱/۲۵a	۱/۵۶a
	روی به‌مراه SNP	۱/۵۱a	۱/۳۱a	۱/۴۰a	۱/۳۸a
نسبت وزن خشک به تر (g)	فلز روی	۰/۳۷a	۰/۴۰a	۰/۳۶a	۰/۳۶a
	روی به‌مراه SNP	۰/۳۸a	۰/۳۵a	۰/۴۲a	۰/۴۱a

\* حروف متفاوت در هر ردیف نشانه معنی‌دار بودن در سطح (p ≤ 0.05) با استفاده از آزمون دانکن است.

(جدول ۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد افزایش غلظت روی همچنین تاثیر معنی‌داری بر روی مقدار پروتئین و

افزایش غلظت روی و SNP بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کلروفیل کل) نیز تاثیر معنی‌داری نداشت

آنزیم مالون دآلدئید نداشت اما مقدار این مواد در تیمار همزمان روی و نیتروپرو ساید سدیم در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد. میزان قندهای محلول در ریشه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر

نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. تیمار همزمان روی و نیتروپرو ساید سدیم بر میزان قند در ریشه و برگ معنی- دار نبود (جدول ۵).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی اندام‌های مختلف گونه کاج تحت تیمار فلز روی و تیمار همزمان روی و نیتروپرو ساید سدیم

پارامتر مورد بررسی	منابع تغییرات	میانگین مربعات (MS)	خطا (F)	سطح معنی دار (sig)
کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> fw)	روی	۰/۴۶۳	۰/۱۵۸	۰/۹۱۹
	روی × SNP	۳/۶۷۵	۰/۴۶۷	۰/۷۲۱
کلروفیل b (mg g <sup>-1</sup> fw)	روی	۲۹/۵۲۰	۰/۳۳۳	۰/۸۰۴
	روی × SNP	۷۲/۹۴۵	۱/۷۶۹	۰/۲۹۲
مالون دآلدئید برگ (μm g <sup>-1</sup> fw)	روی	۱/۵۵	۰/۰۲۳	۰/۹۹
	روی × SNP	۲۲/۲۴	۰/۵۵	۰/۷۷
پرویلین برگ (mg/g fw)	روی	۱۸/۱۸۵	۱/۶۷۵	۰/۳۰۸
	روی × SNP	۱۸۶/۶۷	۸/۰۶	۰/۰۳۶
قند برگ (mg/g wd)	روی	۲۰۱۴/۱۶۸	۱۴/۲۴۱	۰/۰۰۱*
	روی × SNP	۱۰۶۳/۱۷	۱/۸۳۳	۰/۲۱۹
قند ریشه (mg/g wd)	روی	۳۴۵/۲۸	۴/۹۶	۰/۰۳۱*
	روی × SNP	۱۰۷/۱۴	۱/۲۰۰	۰/۳۷۰

جدول ۵ نتایج مقایسه میانگین‌های صفات فیزیولوژیکی اندام‌های مختلف گونه کاج تحت تیمار فلز روی و تیمار همزمان روی و نیتروپرو ساید سدیم

فاکتورهای مورد اندازه‌گیری	نوع تیمار	غلظت فلز روی (mg/L)			
		شاهد	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> fw)	فلز روی	۲/۰۴a	۲/۱۸a	۲/۵۳a	۱/۳۸a
	روی به همراه SNP	۵/۲۴a	۲/۳۹a	۲/۳۸a	۳/۷۰a
کلروفیل b (mg g <sup>-1</sup> fw)	فلز روی	۳۴/۳۶a	۳۹/۹۱a	۳۱/۶۵a	۳۸/۷۴a
	روی به همراه SNP	۲۳/۲۳a	۳۲/۷۳a	۳۹/۵۹a	۳۳/۳۰a
مالون دآلدئید برگ (μm g <sup>-1</sup> fw)	فلز روی	۳۵a	۳۳/۵۳a	۳۵a	۳۵/۶۰a
	روی به همراه SNP	۲۸/۸۰b	۳۰/۹۶ab	۳۷ab	۳۹/۴۰a
پرویلین برگ (mg/g fw)	فلز روی	۱۵/۱۰a	۱۰/۹۲a	۱۸/۲۶a	۱۵/۲۳a
	روی به همراه SNP	۱۷/۲۷b	۹/۷۲b	۲۰/۵ab	۳۲a
قند برگ (mg/g wd)	فلز روی	۵۸/۲۱b	۱۱۰/۴۹a	۷۶ab	۹۷/۲۶a
	روی به همراه SNP	۶۰/۲۸a	۵۰/۵۵a	۵۴/۱۸a	۵۷/۲۲a
قند ریشه (mg/g wd)	فلز روی	۴۲/۸۸b	۴۰/۵۵b	۶۳/۹۶a	۴۵/۰۴b
	روی به همراه SNP	۳۸/۹۱a	۴۴/۳۳a	۳۳/۷۰a	۴۷/۱۹a

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه معنی دار بودن در سطح (p ≤ 0.05) با استفاده از آزمون دانکن است.

برای ارزیابی تاثیر تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بعضی محققان کاهش، بدون تاثیر و یا حتی افزایش میزان رنگیزه‌ها را گزارش کرده اند (پاریخ، ۱۹۹۰). نتایج این تحقیق

غلظت‌های مختلف روی بر روی همه صفات مورفولوژی و همچنین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b, کلروفیل کل) نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد. کلروفیل اغلب

همچنین نشان داد که غلظت‌های مختلف روی بر میزان پرولین و آنزیم مالون دآلدئید تاثیری نداشت. اکسیداسیون پروتئین‌ها نیز مانند پراکسیداسیون لیپیدها از اصلی‌ترین صدمات اکسیداتیوی و جزء شاخص‌های اولیه تنش اکسیداتیو محسوب می‌گردد (شارما و دویی، ۲۰۰۵). نقش حفاظتی پرولین وابسته به توانایی آن در کم کردن سمیت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) (تریپاتیا و گاور، ۲۰۰۴) و ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی است (مهتا و گاور، ۱۹۹۹). ویجز و اسپجات (۱۹۹۷) در مطالعات مشابه بطور واضح نشان داد که روی هیچ تاثیر معنی‌داری بر میزان تجمع پرولین برگ در یک اکوتیپ مقاوم از گونه *Silene vulgaris* و یک اکوتیپ حساس به عناصر سنگین از همین گونه نداشت. اندازه‌گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمول‌ترین و قابل قبول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است. (لی و همکاران، ۲۰۱۳) مشابه نتایج این تحقیق در بررسی آسیب اکسیداتیو آنزیم‌های آنتی اکسیدان و متابولیسم پرولین ناشی از پاسخ به تنش فلز روی، در ریشه و برگ‌های گیاه گندم نشان دادند که با افزایش روی در مقدار آنزیم مالون دآلدئید تغییری ایجاد نشد. میزان قندهای محلول در ریشه و برگ نسبت به شاهد بصورت معنی‌داری افزایش نشان داد. بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزه‌های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف می‌سازند (ژنگ و تیرمانس، ۱۹۹۹) با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع فلز در سلول‌ها، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این افزایش قندهای محلول به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (ورما و دویی، ۲۰۰۱). در مجموع افزایش قندهای محلول در طی تنش را می‌توان به دلایل زیر توجیه کرد: ۱- تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول ۲- سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوسنتزی ۳- متوقف شدن رشد (هیساو، ۱۹۷۳). در سلول‌های گیاهان عالی مولکول‌های پلیمری به مولکول‌های کوچکتر شکسته می‌شوند، به عنوان مثال نشاسته به ساکارز و سپس به مولکول‌های کوچکتری مانند کلوگز و فروکتوز تبدیل می‌شوند بنابراین افزایش در غلظت قندهای محلول ممکن است نتیجه تجزیه نشاسته باشد (پسرکلی، ۱۹۹۹). مویا و همکاران (۱۹۹۳) بیان داشتند که افزایش میزان قندهای محلول می‌تواند به دلیل اثر عناصر سنگین در کاهش استفاده از قندهای محلول برای رشد گیاه باشد. افزایش نشاسته و قند در برگ‌های گیاهان *Betula*

*Picea, Pinus* در اثر عناصر سنگین نشان‌دهنده اثر این عناصر در ممانعت از هیدرولیز این مواد است (بیشنوی و همکاران، ۱۹۹۳). نکته قابل توجه اینکه قند ریشه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به غلظت ۲۰۰ کاهش یافته است. علت کاهش در غلظت‌های بالاتر احتمالاً به دلیل کاهش فتوسنتز یا تحریک سرعت تنفس می‌باشد (مویا و همکاران، ۱۹۹۳). علاوه بر این، نتایج برای تیمار همزمان روی و نیترو پروساید سدیم نشان داد که کاربرد SNP بر روی صفات مورفولوژی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول تاثیر نداشت. کاربرد SNP در میزان جذب روی برای غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری نشان داد. نیتریک اکسید (NO) یک رادیکال گازی نسبتاً پایدار است که می‌تواند نقش حفاظتی یا تشیی داشته باشد. آنزیم‌های نیتریک اکسید سنتتار، آرژیناز و آرژینین دکربوکسلاز سه مسیر اصلی متابولیسم آرژینین را کاتالیز می‌کنند. آنزیم نیتریک اکسید سنتتار (NOS) آرژینین را به نیتریک اکسید و سیتروپولین هیدرولیز می‌کند در حالیکه محصولات اصلی مسیرهای وابسته به آرژیناز و آرژینین دکربوکسیلاز ترکیبات پلی آمین و پرولین است. نصیبی و همکاران (۱۳۹۰) بر خلاف نتایج این تحقیق در مقایسه پیش تیمار سدیم نیترو پروساید و آرژینین بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه تحت تنش کم آبی نشان دادند که تاثیر کاربرد SNP تاثیری بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی و قند محلول برگ نداشته است. احتمالاً نقش NO در این میان ضعیف است و مسیر اصلی متابولیسم آرژینین را به طرف پلی‌آمین‌ها و پرولین است و از این طریق حفاظت خود را اعمال می‌کند (نصیبی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین به نظر می‌رسد NO در غلظت بالای ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر SNP با تولید بیش از حد رادیکال -ONOO (پراکسی نیتريت) ایجاد تنش نیتروزیاتیو می‌کند و با رادیکال‌های اکسیژن در تخریب سلول همکاری می‌نماید.

### نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد افزایش غلظت روی در خاک، تاثیر معنی‌داری در فاکتورهای رشدی گیاه کاج الدار ایجاد نمی‌کند. با افزایش غلظت روی در خاک مقدار قندهای محلول در ریشه و برگ کاج الدار افزایش یافت که این می‌تواند یکی از واکنش‌های سازشی گیاه در برابر افزایش روی و تنش ناشی از آن باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود از گیاه کاج الدار برای کاشت در خاک‌های آلوده با شرایط مشابه این تحقیق استفاده شود. تیمار همزمان روی و SNP باعث افزایش میزان



در ریشه گیاه کاج الدار در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در تیمار بدون SNP برابر با ۵۳۸/۸۰ mg/kg اندازه‌گیری شد، احتمالاً بتوان در آینده با تعیین بالاترین حد آستانه تحمل از این گیاه، در گیاه تثبیتی در خاک‌های آلوده به روی استفاده کرد.

پروکلین و MDA در کاج الدار شد. از آنجا که در تیمار همزمان روی و SNP تأثیر مثبت رشدی در غلظت‌های به‌کار رفته مشاهده نشد، پیشنهاد می‌شود اثر مواد دیگری مانند سلیکون، گلیسین بتائین و غیره بررسی شود. از آنجا که انباشت فلز روی

## منابع

- پورخیزاب، ع.ر.، جوانمردی، ح. ر.، جوانمردی، س. ۱۳۹۰. آلودگی هوا و اثرات آن بر گیاهان. انتشارات دانشگاه بیرجند. ۲۶۸ صفحه.
- داوری، ع.، جوانشیر، ا.، خراسانی، ن. خ.، دانه کار، ا. ۱۳۹۰. بررسی تجمع فلزات سنگین در بستر، برگ و ریشه درختان حرا (*Avicennia marina*) در استان بوشهر. نشریه محیط زیست طبیعی. دوره ۶۳، شماره ۳، صفحه ۲۷۷-۲۶۷.
- رئیدی، م. ع.، اسرار، ز. و پورسیدی، ش. ۱۳۸۸. بررسی اثر متقابل سدیم نیتروپروساید سدیم (SNP) و مس بر برخی از پارامترهای رشد و فیزیولوژی گیاه شاهمی (*Lepidium Sativum L.*). مجله زیست شناسی گیاهی. جلد ۱، شماره ۲: ۵۵-۷۳.
- مهدوی، ع. و خرمن دار، خ. ۱۳۹۴. ارزیابی توان نهال‌های یکساله نخل زیتنی در تجمع فلز آلاینده روی. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست. شماره ۱: ۱۶۵-۱۵۵.
- نصیبی، ف. ۱۳۹۰. بررسی اثر غلظت‌های متفاوت نیتروپروساید سدیم (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی. مجله زیست شناسی گیاهی. شماره ۹: ۶۳-۷۴.
- نصیبی، ف.، منوچهری کلانتری، خ. و یعقوبی، م.م. ۱۳۹۰. مقایسه پیش تیمار سدیم نیتروپروساید سدیم و آرژینین و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) تحت تنش کم آبی. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۶، شماره ۲۴: ۸۳۳-۸۴۷

- Assareh M.A., Ghamari Zare A. (2008). " Seedling response of three Eucalyptus species to copper and zinc, toxic concentrations Caspian", J. Env. Sci, 6 (2): 97-103.
- Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant soil. 39: 205-207.
- Bishnoi, N.R., A. Dua, V.K. Gupta and S.K. Sawhney. 1993. Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas. Agric. Ecosyst. Environ. 47 (1): 47-57.
- Broadley, M.R., P.J. White, J.P. Hammond, I. Zelko and A. Lux. 2007. Zinc in plants. New Phytol. 173: 677-702.
- Celik A., A.A., Kartal, A., Akdogan and Y, Kaska. 2005. Determining the heavy metal pollution in Denizli (Turkey) by using Robinio pseudo-acacia L. J. Environ. Inter. 31: 105-112.
- Chen, H., B. Mc Carig, M. Melotto, S. Yang He and G.A. Howe. 2004. Regulation of plant arginase by wounding, Jasmonate and the phytotoxin coronatine. J. Biol. Chem. 279: 45998-46007.
- Cherif, J., N. Derbel, M. Nakkach, H. Bergmann, F. Jemal and Z.B. Lakhdar. 2010. Analysis of in vivo chlorophyll fluorescence spectra to monitor physiological state of tomato plants growing under zinc stress. J. Photochem. Photobiol. 101: 332-339.
- Di, L., L. Ai-Hong, H. Chen, W. Jin-Hua and W. Yan-An. 2012. Response of Organic Acids to Zinc Homeostasis in Zinc-Deficient and Zinc-Toxic Apple Rootstock Roots. Pedosphere. 22(6): 803-814.
- Ernst, W. 1975. Physiology of heavy metal resistance in plants. In Hutchinson, T. C., Epstein, S., Page, A. L., Van Loon, J. and Davey, T. (eds.) Proceedings of an International Conference on Heavy Metals in the Environment. Vol. 2. CEP Consultants, Toronto., Edinburgh, pp. 121-136.
- Guerinot, M. L. and D. Eide. 1999. Zeroing in on zinc uptake in yeast and plants. Curr. Opin. Plant. Biol. 2: 244-249.
- Hsu, Y.T. and C.H. Kao. 2004. Cd toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. Plant. Growth. Regul. 42: 227-238.
- Haydon, M.J. and C.S. Cobbett. 2007. Transporters of ligands for essential metal ions in plants. New Phytol. 174: 499-506.
- Hissao, T. 1973. Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol. 24: 519-570.
- Jones, D.L. 1998. Organic acids in the rhizosphere critical review. Plant Soil. 205: 25-44.
- Kuang, Y.W., G.Y. Zhou, D.Z. Wen, J. Li and F.F. Sun. 2011. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tree-Rings of Masson Pine (*Pinus Massoniana L.*) from Two Industrial Sites in the

- Pearl River Delta, South China. *J. Environ. Monit.* 13: 2630–2637.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method: 56-97. In: Outten, C.E. and T.V. O'Halloran. 2001. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis. *Science*. 292: 2488–2492.
- Leshem, Y.Y. 1996. Nitric oxide in biological systems. *Plant. Growth. Regul.* 18: 155-159.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzym.* 148: 350-382.
- Li, X., Y. Yang, L. Jie, H. Chen and X. Wei. 2013. Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 89: 150-157.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd edn. Academic Press, London.
- Mathys, W. 1977. The role of malate, oxalate, and mustard oil glucosides in the evolution of zinc resistance in herbage plants. *Physiol. Plantarum.* 40: 130–136.
- Mehta, S.K. and J.P. Gaur. 1999. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.* 143: 253–259.
- Mingorance, M.D., B. Valdés and S. Rossini Oliva. 2007. Strategies of Heavy Metal Uptake by Plants Growing under Industrial Emissions. *Environ. Int.* 33: 514–520.
- Moya, J.L., R. Ros and I. Picazo. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynth. Res.* 36: 75–80.
- Odjegba, V.J and I.O. Fasidi. 2004. Accumulation of trace elements by *Pistia stratioides*: implications for phytoremediation. *Ecotoxicology.* 13: 637–646.
- Parekh, D., R.M. Puranik and H.S. Srivastava. 1990. Inhibition of chlorophyll biosynthesis by cadmium in greening maize leaf segments. *Bioch. Physio. Pflanzen.* 186: 239–242.
- Pessaraki, M. 1999. Handbook of Plant and Crop Stress. Second Edition. Marcel Dekker, Inc.
- Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161: 1189–1202.
- Ryan, C. A. and M. Walker-Simmons. 1983. Plant vacuoles. *Methods Enzymol.* 96: 580–589.
- Serbula, M.S., S.T. Kalinovic, A.A. Ilic and V.J. Kalinovic. 2013. Assessment of Airborne Heavy Metal Pollution Using *Pinus spp.* and *Tilia spp.* *Aerosol and Air Quality Research*, 13: 563–573.
- Shanti, S.S. and K.J. Dietz. 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Experim. Bot.* 57: 711-726.
- Sharma, P. and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant. Growth. Regul.* 46: 209-221.
- Schat, H. and R. Vooijs. 1997. Multiple tolerance and co-tolerance to heavy metals in *Silene vulgaris* aco-segregation analysis. *New. Phytol.* 136: 489–496.
- Sun, F., D. Wen, Y. Kuang, J. Li. and W. Zuo. 2010. Concentrations of Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Needles of Masson Pine (*Pinus massoniana L.*) Growing Nearby Different Industrial Sources. *J. Environ. Sci.* 22: 1006–1013.
- Sun, F.F., Wen, daZ. Kuang, Y.W. Li, J. and J.G. Zhang. 2009. Concentrations of Sulphur and Heavy Metals in Needles and Rooting Soils of Masson Pine (*Pinus massoniana L.*) Trees Growing along an Urban-Rural Gradient in Guangzhou, China. *Environ. Monit. Assess.* 154: 263–274.
- Tripathi, B.N. and J.P. Gaur. 2004. Relationship between copper and zinc-induced oxidative stress and proline accumulation in *Scenedesmus sp.* *Planta.* 219: 397–404.
- Van de Mortel, J.E., L.A. Villanueva, H. Schat, J. Kwekkeboom, S. Coughlan, D. Moerland, P.V.L. Van Themaat, M. Koornneef and M.G.M. Aarts. 2006. Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant. Physiol.* 142: 1127–1147.
- Verma, S. and R.S. Dubey. 2001. Effect of Cd on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia. plantarum.* 44 (1): 117 – 123.
- Wendehenne, D., A. Pugin, D. Klessig, and J. Durner, 2001. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Tren. Plant Sci.* 6: 77-183.
- Wu, R. and A. Garg. 2003. Engineernig rice plants with trehalose producing genes improves tolerance to drought, salt and low temperature. *ISB News*, February.
- Xu, W.H., H. Liu, Q.F. Ma and Z.T. Xiong. 2007. Root exudates, rhizosphere Zn fractions, and Zn accumulation of ryegrass at different soil Zn levels. *Pedosphere.* 17: 389–396.

## Effect of Zn without and with Sodium Nitro-Prusside (SNP) on growth and some physiological characteristics of Eldar pine (*Pinus eldarica Medw*)

T. Abtin<sup>۱</sup>, J. Mirzaei<sup>۲</sup>, A. Saleh Arani<sup>۳</sup>, H. R. Azimzadeh<sup>۳</sup>

Received: 2015-12-16 Accepted: 2016-2-24

### Abstract

Although Zn is an essential element for plants, but it is poisonous in high concentrations and affect growth disturbance. This study was performed in 2013 to investigated the effects of different concentration (0, 100, 200 and 400 mg/L) of the Zn and also done a fixed amount (750mg) of SNP on growth and some physiological parameters in *Pinus eldarica*. Results showed the accumulation of Zn (without SNP) in root, stem and leaves increased when concentration of Zn in soil increased. The most were measured in root (538.80mg/kg) and the lowest in leaves (105.73mg/kg). Different concentration of Zn did not significantly effect on chlorophyll a, b, and total chlorophyll, MDA, and proline but increased soluble sugar in root and leaves. Also, SNP increased concentration of Zn in soil significantly increased in the root, stem, leaf and root and the most content were in root (662.36 mg/kg) and the lowest in leaves (46.16 mg/kg). These treatments caused a significant increase in leaf proline and MDA. In general, due to the good resistance in 400 ml/l concentration and also the better accumulations in roots rather than shoots in *Pinus eldarica*, can use as refinement in pollutant soils. It is also recommended to evaluate the highest level of accumulation on this species in higher concentrations.

**Keywords:** Growth disorders, *Pinus eldarica* Medw, chlorophyll, phytoremediation, MDA

1- MSc.Student of Forestry, College of Natural Resource, Yazd University, Yazd, Iran

2 -Department of forest science, College of Agriculture, Ilam university, Ilam, Iran

3- Associated Prof. college of natural resource, Yazd university, Yazd, Iran