



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>  
Journal of Plant Biological Sciences  
E-ISSN: 3041-9603  
Vol. 15, Issue.3, No. 57, Autumn 2023  
Document Type: Research Paper  
Received: 27/04/2024 Accepted: 24/06/2024

## Investigating the effect of the presence of toxic amounts of nickel and zinc on the change of sensitivity, resistance, and growth in safflower plant (Goldasht cultivar) to aphid biological stress

Fatemeh Seydabadi<sup>1</sup>, Mohsen Mehrparvar<sup>1</sup>, Seyed Mozaffar Mansouri<sup>1</sup>, Hossein Mozaffari<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

### Abstract

Biological and abiotic stresses reduce growth and yield in plants. During their growth period, plants may be subjected to various abiotic stresses such as heavy metals, lack of essential elements, increase of some elements, and also biological stresses such as the attack of herbivorous insects. In this research, the effect of both nickel and zinc 300  $\mu$ M salts on the change of resistance and some growth and physiological parameters of the safflower plant (Goldasht cultivar) was studied under standard greenhouse conditions in the presence or absence of safflower aphid biological stress. For this purpose, an experiment was conducted in the form of a randomized complete block design and factorial form with 8 treatments including Hoagland's solution (control), zinc, nickel, and zinc + nickel in two conditions with treatment or without treatment with seven blocks (repetition). Plant growth parameters such as plant height, number of leaves, leaf area, root wet weight, aerial organ wet weight, and some physiological parameters such as relative water content, chlorophyll content, carotenoid content, and ion leakage percentage were measured. The research results showed that the reducing effect of nickel toxicity and aphid biological stress on plant growth parameters was significant. The interaction between heavy metal treatment and biological stress had a significant effect on the height of the stem and the number of leaves, which indicated the combined effect of the toxicity of heavy metals nickel and zinc along with aphid stress on these two growth parameters and increased plant sensitivity. However, overall, the results of this research showed that if the plant is placed in non-stress conditions of zinc and nickel metals and given proper nutrition, it will have more performance and resistance during biological stress such as aphid attack and the presence of toxic amounts of heavy metals causes more sensitivity during the attack of pests and herbivores.

\* Corresponding Author: [h.mozafari@kgut.ac.ir](mailto:h.mozafari@kgut.ac.ir)



## Introduction

Stress is the change in the natural and optimal conditions for an organism, which diminishes its growth and development. Plants, like other living organisms, are subject to various abiotic stresses, including heavy metal stress and damage caused by deficiencies or increases in certain elements, as well as biological stresses such as herbivorous insects' infestations or diseases. This research aimed to investigate the separate and combined effects of heavy metals nickel and zinc on changes in sensitivity or resistance, changes in growth and physiological parameters, and to investigate sensitizing or resistance reactions of the safflower plant of Goldasht variety under aphid biological stress under standard conditions of growth in a greenhouse.

## Materials and Methods

In this study, the effect of nickel and zinc application on some growth and physiological parameters of Safflower, *Carthamus tinctorius* (Asteraceae) (Goldasht cultivar), in greenhouse conditions under bio-stress of Safflower aphid, *Uroleucon carthami* (Hemiptera: Aphididae) were studied. Plant growth and rearing the aphids and also performing the experiment were carried out in greenhouse conditions with a temperature of 24 °C during the day and 20 °C at night, relative humidity of  $50 \pm 5\%$ , and a light period of 8 h of darkness and 16 h of light in the research greenhouse of the Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Experiments were run as fully factorial randomized block designs with four treatments for heavy metals using Hogland solution as Control, Ni, Zn, and Ni+Zn and two aphid treatments as with aphid and without aphids. Growth parameters such as plant height, number of leaves, leaf surface, fresh root weight, fresh aerial plant parts weight, and some physiological parameters such as relative water content, chlorophyll content, carotenoid content, and percentage of ion leakage were measured.

## Results and Discussion

The results showed a significant effect of nickel on most of the measured parameters and the effect of aphid bio-stress with a significant effect on plant growth parameters. The interaction between heavy metals stress and aphid bio-stress was statistically significant for plant height and number of leaves which shows the combined effects of these two treatments on safflower plants. Biological stress by pests and plant diseases has different negative effects on the growth and physiological indicators of the host plant. As seen in this research, the presence of aphids on safflower plants as biological stress caused a decrease in growth parameters and a negative effect on some physiological parameters of the plant. Plants have always been exposed to pest insects, so they suffer the most damage from these organisms. Because insects feed on all parts of the plant and in all growth stages, they destroy the plants and reduce the growth of aerial organs and roots, increase the plant's sensitivity to pathogens, and reduce the ability of plants to compete with other plants.

## Conclusion

The results of this research indicate the significant effect of nickel and zinc as well as aphid biological stress on the growth and physiological characteristics of the safflower plant, which causes a decrease in safflower biomass and yield. Meanwhile, the effect of nickel was greater than that of zinc, and in addition to reducing plant growth parameters, symptoms such as chlorosis and necrosis of leaves were also noticeable due to the use of

nickel. The interaction effect of treatment with heavy metals and biological stress of aphids on plant height and leaf number parameters was significant and this means that these two stresses have a combined effect on these two parameters in addition to their specific effects. The application of heavy metal stress in this research, especially nickel, decreased the growth and increased sensitivity to biological stress and herbivory of safflower aphids.

**Acknowledgment**

This article is a part of the first author's master's thesis research, which was carried out with the financial support of the Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

**Keywords:** Biological stress, Heavy metal stress, Nickel, Safflower plant, Zinc

## بررسی تأثیر حضور مقادیر سمی نیکل و روی بر تغییر حساسیت، مقاومت و رشد گیاه گلرنگ (رقم گلدشت) نسبت به تنش زیستی شته

فاطمه سیدآبادی<sup>۱</sup>، محسن مهرپرور<sup>۲</sup>، سید مظفر منصوری<sup>۳</sup> و حسین مظفری<sup>۴\*</sup>

<sup>۱،۲،۳</sup> گروه تنوع زیستی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی

و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

<sup>۴</sup> گروه اکولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و

فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

### چکیده

تنش‌های زیستی و غیرزیستی، سبب کاهش رشد و عملکرد در گیاهان می‌شوند. گیاهان در دوره رشد خود، ممکن است تحت تأثیر تنش‌های مختلف غیرزیستی از جمله فلزات سنگین، کمبود عناصر ضروری، افزایش برخی از عناصر و همچنین تنش‌های زیستی مانند حمله حشرات گیاه‌خوار واقع شوند. در این پژوهش، تأثیر ۳۰۰ میکرومولار از فلزات نیکل و روی بر تغییر مقاومت و برخی فاکتورهای رشدی و فیزیولوژیک گیاه گلرنگ (رقم گلدشت) در شرایط استاندارد گلخانه‌ای در حضور یا عدم حضور تنش زیستی شته گلرنگ بررسی شد. برای این منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی و با ۸ تیمار شامل محلول هوگلند (شاهد)، روی، نیکل و روی+ نیکل در دو شرایط دارای تیمار شته یا بدون شته با هفت بلوک (تکرار) انجام شد. فاکتورهای رشدی گیاه مانند ارتفاع گیاه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی و برخی فاکتورهای فیزیولوژیک مانند محتوای آب نسبی، محتوای کلروفیل، محتوای کاربوهیدرات و درصد نشت یونی سنجش شدند. نتایج پژوهش نشان داد که؛ تأثیر کاهشی سمیت نیکل و تنش زیستی شته بر فاکتورهای رشدی گیاه معنی‌دار بود. بر هم‌کنش متقابل بین تیمار فلزات سنگین و تنش زیستی شته بر ارتفاع ساقه و تعداد برگ دارای اثر معنی‌دار بود که نشان دهنده اثر توأم سمیت فلزات سنگین و نیکل و روی همراه با تنش شته بر این دو فاکتور رشد و افزایش حساسیت گیاه بود. در مجموع نتایج این پژوهش نشان دادند در صورتی گیاه در شرایط غیر تنش فلزات روی و نیکل و تغذیه مناسب قرار گیرد، عملکرد و مقاومت بیشتری در هنگام بروز تنش زیستی مانند حمله شته خواهد داشت و حضور مقادیر سمی فلزات سنگین سبب حساسیت بیشتری در زمان حمله آفات و علف‌خواران می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تنش فلزات سنگین، تنش زیستی، روی، نیکل، گیاه گلرنگ

\* نگارنده مسؤو: نشانی پست الکترونیک: h.mozafari@kgut.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۴۳۲۱۶۴۰۵۲



## مقدمه

وارد نموده است. بنابراین مصرف بی رویه این کودها سبب تجمع آلاینده ها در خاک، منابع آب و افزایش آنها در گیاهان و زنجیره غذایی انسان و حیوانات می‌شوند (Pourmoghadas & Zafarzadeh, 2017).

فلزات سنگین گروه مهمی از آلاینده‌ها با دو اثر کشندگی و زیر کشندگی در موجودات زنده هستند، به طوری که این اثرات می‌توانند نقش مهمی در روابط اکولوژیک درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در اکوسیستم داشته باشند. همچنین این تغییرات بر حساسیت، نحوه رشد و واکنش گیاهان به محیط زندگی و موجودات اطراف تأثیر دارند (Boyd, 2010). فلزات سنگین می‌توانند بر پاسخ ایمنی موجوداتی مانند گیاهان تأثیر بگذارند و در نتیجه منجر به تغییر در حساسیت، روابط بین میزبان و آفت می‌شوند (Kambhampati et al., 2005).

در بین آلودگی‌هایی که توسط فلزات ایجاد می‌شود، بیش تر به آلودگی فلزاتی از جمله روی، نیکل، جیوه، سرب، کادمیم، کروم و مس توجه شده است (Nagajyoti et al., 2010). فلزات سنگین می‌توانند به ایجاد سمیت بالایی در گیاهان منجر شوند و از آنجایی که گیاهان جزء جدایی ناپذیری از محیط زیست به شمار می‌روند، این تأثیر فلزات بسیار قابل توجه است. گیاهان در حال رشد در محیط آلوده به فلزات، تغییراتی از جمله تغییر در سوخت و ساز، کاهش رشد، کاهش زیست توده و تجمع فلزات را نشان می‌دهند (Weis & Weis, 2004; Nagajyoti et al., 2010). بعضی از فلزات سنگین مانند روی و مس برای سوخت و ساز موجودات زنده ضروری هستند، در حالی که فلزاتی مانند سرب غیر ضروری

تأثیر آلودگی محیط زیست بر برخی فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاهان و حیوانات و نیز تأثیر بر تولیدات کشاورزی و در نتیجه اثر آن روی سلامت انسان، بسیار حائز اهمیت است (Duruibe et al., 2007; Gall et al., 2015; Tutic et al., 2015). این آلودگی‌ها در درجه اول نتیجه فعالیت‌های انسان هستند. آلاینده‌های هوا و خاک با فعالیت‌های انسانی از جمله صنعت، استخراج معادن، کشاورزی و تولید زباله‌های خطرناک در محیط زیست منتشر می‌شوند (Nagajyoti et al., 2010; Gall et al., 2015). در بین آلوده کننده‌های محیط زیست، فلزات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Gall et al., 2015). این مواد در خاک، آب‌های سطحی و گیاهان وجود داشته و به آسانی توسط فعالیت‌های انسان در اکوسیستم‌های طبیعی مانند جنگل‌ها، رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و اقیانوس‌ها منتشر می‌شوند (Nagajyoti et al., 2010; Baghban et al., 2014). فلزات سمی و سنگین، عامل بالقوه‌ای برای تهدید موجودات مختلف از جمله انسان هستند و می‌توان گفت آلودگی ناشی از سمیت مقادیر بیش از حد نیاز این عناصر در گیاهان، یکی از مشکلات عمده تولید محصولات کشاورزی است (Boyd, 2010). تحمل به این عناصر در گیاهان و گیاه‌خواران ویژگی ثابتی نیست و ممکن است در مراحل مختلف رشد هر گونه متفاوت باشد. از این رو، دانستن و بررسی این که این آلودگی با فلزات چه تأثیری بر گیاه، گیاه‌خوار و محیط زیست دارد بسیار مهم است. همچنین مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی که حاوی عناصر سنگین هستند، علاوه بر مشکلات اقتصادی، خسارت‌های زیادی را به محیط زیست

کاهش عملکرد و کاهش رشد در گیاهان شده که به علت کلروزگی ناشی از کمبود آهن در مسیر بیوسنتز کلروفیل و تسریع در تخریب کلروپلاست، و تداخل در جذب فسفر، منیزیم و منگنز رخ می‌دهد. گیاهان از نظر حساسیت به سمومیت روی تفاوت چشمگیری با یکدیگر دارند (Broadley *et al.*, 2007). نیکل نیز یکی از فلزات سنگین است که به عنوان فلزی سمی و سرطان‌زا مطرح است (Pourakbar & Ebrahimzade, 2014). نیکل و ترکیبات آن از دو روش منبع طبیعی و فعالیت‌های انسانی وارد محیط می‌شوند. نیکل به عنوان یک عنصر مغذی ضروری برای تکمیل چرخه ازت گیاهان شناخته شده است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند افزایش جوانه زنی و عملکرد دانه جو ناشی از حضور نیکل در خاک اتفاق می‌افتد. به هر حال نیکل در غلظت بسیار کم برای متابولیسم نیتروژن در گیاهان موثر است. برای مثال وزن گره‌ها و عملکرد دانه سویا با کوددهی نیکل افزایش پیدا می‌کند (Brown *et al.*, 1987). نیکل یک عنصر ضروری برای گیاهان و بسیاری از موجودات دیگر است که در ساخت آنزیم اوره‌آز نقش دارد، هرچند که همیشه خطر سمیت آن نسبت به کمبود آن بیش‌تر از مد نظر بوده است. افزایش نیکل در حد بیش‌تر از غلظت بهینه، منجر به ممانعت از فعالیت‌های متابولیسمی گیاه می‌شود (Nagajyoti *et al.*, 2010). نمونه‌برداری‌های انجام شده نشان دادند افزایش معنی‌داری در میزان نیکل در خاک‌های زراعی و جنگلی، رسوبات آب‌ها و محیط‌های دریایی جهان در قرن گذشته رخ داده است (Seregin & Kozhevnikova, 2006). به‌هرحال

هستند و گرایش به سمی بودن در برخی گونه‌ها دارند. مس و روی ریز مغذی‌های ضروری مورد نیاز در کلروپلاست، سیستم‌های آنزیمی، سنتز پروتئین، هورمون‌های رشد، کربوهیدرات‌ها و متابولیسم هستند (Nagajyoti *et al.*, 2010). حضور این نوع عناصر در گیاهان می‌تواند نقش‌های متفاوتی داشته باشند که نقش دفاعی نیز برای آن‌ها ثابت شده است (Boyd, 2010). وجود مقادیر مشخص و کمتر سمی از فلزاتی مانند نیکل، مس، کبالت، روی، منگنز و سرب در گیاه نقش ضدتغذیه‌ای و کاهش جذابیت برای شته دارند. عملکرد این عناصر دفاعی همراه با دیگر سازوکارهای دفاعی گیاه، سبب ایجاد حالت ضدتغذیه‌ای در حشره آفت و یا تولید ماده ضد آفت و نیز سبب تقویت دفاع‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه می‌شوند، که به کاهش جمعیت گیاه‌خواران منجر می‌شوند (Poschenrieder *et al.*, 2006). فلز روی برای حیوانات و گیاهان به‌عنوان یک عنصر ضروری و نیز یک ریز مغذی برای فرآیندهای متابولیک گیاهان محسوب می‌شود (Xie *et al.*, 2014). عنصر روی دارای نیمه عمر زیستی طولانی است و در گیاهان برای حفظ ریوزوم اهمیت دارد. حضور روی در گیاه در شکل‌گیری کربوهیدرات و کاتالیز مراحل اکسیداسیون موثر است. همچنین روی نقش ساختاری در بسیاری از فاکتورهای رونویسی دارد و یک کوفاکتور از RNA پلیمراز فراهم می‌کند. غلظت بالای روی سبب جلوگیری از فعالیت‌های متابولیک می‌شود که نتیجه‌ی آن عقب ماندگی رشد و پیری گیاه است. همچنین سمیت روی سبب نکروزه شدن برگ‌های جوان می‌شود. از سوی دیگر، تنش سمیت با مقادیر اضافی روی منجر به

بررسی تغییرات حساسیت و مقاومت، ضروری بنظر می‌رسد.

بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثرات جداگانه و توأم فلزات سنگین نیکل و روی بر تغییر حساسیت یا مقاومت، تغییر فاکتورهای رشدی و شاخص‌های فیزیولوژیک در گیاه گلرنگ رقم گلدشت تحت تنش زیستی شته گلرنگ بود. جهت این هدف، بررسی تغییرات واکنش‌های حساسیت‌زا یا مقاومت در گیاهان تحت تنش در شرایط استاندارد رشد در گلخانه انجام شد. بنابراین در این پژوهش، بطور کلی اثر متقابل دو نوع تنش یعنی تنش غیرزیستی عناصر سنگین با تنش زیستی شته بررسی شده است. به‌هرحال این پژوهش در جهت بررسی تأثیر تنش‌های غیر زیستی از جمله فلزات سنگین بر تغییر حساسیت یا مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی آفات گیاهی و علفخواری بیان و هدف گذاری شده است.

### مواد و روش‌ها

**کشت گیاه:** در پژوهش حاضر، از گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) متعلق به تیره کاسنیان (Asteraceae) رقم گلدشت استفاده شد که بذر آن از شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی واقع در اصفهان تهیه شد. کاشت و پرورش گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با دمای  $24^{\circ}\text{C}$  در روز و  $20^{\circ}\text{C}$  در شب و رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد و دوره نوری هشت ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی در گلخانه پژوهشی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، انجام شد. برای کاشت گیاهان، ابتدا بذرها توسط محلول سدیم هیپوکلرید ۰/۳ درصد ضدعفونی شدند و پس از

گیاهانی مانند گلرنگ بطور پیوسته تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله فلزات سنگین، آسیب‌های ناشی از کمبود عناصر و یا افزایش برخی از عناصر خاک و نیز آفات و بیماری‌ها مانند شته قرار دارند (Poschenrieder et al., 2006).

در گذشته، اولین روش برای کاهش اثرات تنش‌های محیطی، عموماً استفاده از کودها، اصلاح خاک، آبیاری و آفت کش‌ها بود. چنین رهیافت‌هایی، اکنون به عنوان عوامل بی‌ثباتی اکوسیستم تلقی می‌شوند و مسلماً گزینه‌ای برای رفع این محدودیت‌ها نخواهند بود. دانستن و بررسی این که این آلودگی ناشی از فلزات چه تأثیری بر گیاه، گیاه‌خوار و محیط زیست دارد بسیار مهم است (Pourmoghadass & Zafarzadeh, 2017). بنابراین هدف اصلی در علوم گیاهی جدید برای سازگار نمودن گیاهان به شرایط محیطی، این است که سازوکارهای مقاومت گیاهان به تنش‌ها درک شود و از این دانش برای تغییر ژنتیکی گیاهان و حتی برای افزایش مقاومت به تنش‌ها، استفاده شود. بنابراین با توجه به آلودگی‌های زیست محیطی و اهمیت حضور تنش‌های زیستی مانند شته، در پژوهش‌های مرتبط با بررسی حساسیت گیاهان زراعی مانند گلرنگ به آفات، می‌بایست وجود یا عدم وجود و نیز اثر متقابل تنش‌های مهمی مانند فلزات سنگین بررسی شود (Pourmoghadass & Zafarzadeh, 2017). با توجه به اینکه تنش‌ها ابتدا در مرحله رشد و قبل از بلوغ و گلدهی گیاه تأثیر زیادی دارند و گیاه گلرنگ نیز در این مرحله تحت تنش است، بنابراین بررسی تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی بر این گیاه مهم دانه روغنی در مرحله رویشی، جهت

گیاهان جدید با قرار دادن تعدادی شته بالغ بی‌بال روی آنها آلوده می‌شدند.

**طراحی آزمایش:** برای ارزیابی تأثیر متقابل فلزات نیکل و روی بر گیاه گلرنگ پس از بهینه‌سازی و انجام پژوهش‌های اولیه، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی و با ۸ کد تیمار شامل؛ ۱- محلول هوگلند (شاهد)، ۲- تیمار روی، ۳- تیمار نیکل و ۴- تیمار توام روی+نیکل که هر کدام در شرایط حضور یا عدم حضور تیمار شته با هفت بلوک (تکرار) در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. اعمال تیمار برای هر بلوک به فاصله زمانی ۳ روز از بلوک قبلی خود انجام شد، بنابراین عامل بلوک‌بندی زمان است. به هر حال هر بلوک شامل هشت گلدان برای ۸ کد تیماری بود. پس از رسیدن گیاهان به مرحله شش برگی، از ۸ کد تیماری استفاده شد (جدول ۱). نمک روی به صورت ۳۰۰ میکرومولار سولفات روی II و نمک نیکل نیز به صورت ۳۰۰ میکرومولار سولفات نیکل II بود که این غلظت‌ها پس از بهینه‌سازی آزمایش و تعیین سطح آستانه تنش قابل توجه برای عناصر روی و نیکل انتخاب شدند. بدین منظور از هر کدام از محلول‌های غلیظ مادر (استوک) حاوی روی و نیکل به مقدار ۰/۱ درصد در محلول هوگلند مخلوط و گیاهان با این محلول آبیاری شدند. روند آبیاری به صورت یک‌روز در میان بود و در روزهای بدون محلول تیمار، از آب مقطر جهت مرطوب نگه داشتن گلدان و عدم تجمع عناصر تیمار استفاده شد. برای مشخص بودن تیمارها، گلدان‌ها بر اساس نوع تیمار با آبرنگ کدگذاری شدند.

شستشو با آب مقطر، بذرها درون ظروف پتری دارای دو لایه کاغذ صافی قرار گرفتند. بذرها توسط محلول غذایی هوگلند با رقت ۱/۲ به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند. استفاده از محلول هوگلند به علت داشتن نیترات جهت تحریک جوانه زنی، افزایش درصد جوانه زنی و رشد یکنواخت بذرها و گیاهان است و خطای تغییر محلول زمینه نیز در تحلیل آماری داده‌ها حذف می‌شود (Hasani & Khangholi, 2022). پس از گذشت این مدت، بذرها در جوانه زده به آرامی در عمق نیم سانتی‌متری داخل ظروف پلاستیکی با قطر و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر که با پرلیت پر شده بودند، نشاء شدند. گیاهان به طور روزانه با مقداری محلول هوگلند آبیاری شدند به طوری که از زیر گلدان محلول جاری نشود و نیز گیاه به قدر کافی آبیاری شود. آبیاری گیاهان با محلول هوگلند تا زمان رسیدن به مرحله شش برگی که برای شروع آزمایش مناسب بودند، ادامه داشت.

### پرورش شته‌ها: تنش زیستی توسط شته گلرنگ

*Uroleucon carthami* (Hem.: Aphididae) انجام شد. این شته از کلنی موجود در گلخانه پژوهشی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان تهیه شد. این کلونی‌ها شته‌های پرورشی هستند که برای انجام پژوهش‌های مختلفی استفاده می‌شوند و در طول سال در دسترس هستند. کلنی شته‌ها روی گیاه گلرنگ در قفس‌هایی به طول و عرض ۳۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۸ سانتی‌متر، که با توری‌هایی با بافت ریز پوشیده شده بودند، در گلخانه تحت شرایط ذکر شده پرورش یافتند. جهت حفظ کلنی شته‌ها، گیاهان پس از مدت حدود یک هفته با گیاهان جدید تعویض و

جدول شماره ۱- کدهای تیماری استفاده شده در این پژوهش که با آزمایش فاکتوریل مشخص شدند و در قالب طرح کامل تصادفی



بر گیاهان گلرنگ در شرایط رشد استاندارد تیمار داده شد.

Table 1-The treatment codes used in this study, which were determined by factorial analysis and were treated on the safflower plant in the form of a completely random design.

ترکیب تیمار (Treatment combination)			
حضور شته گلرنگ بر روی گیاه The presence of safflower aphid on the plant	غلظت نیکل (M) $\mu\text{[Ni}^{2+}]$	غلظت روی (M) $\mu\text{[Zn}^{2+}]$	کد تیمار Treatment code
	0	0	1
	300	0	2
-	0	300	3
	300	300	4
	0	0	5
+	300	0	6
	0	300	7
	300	300	8

توری ظریفی قرار داده شده بود پوشیده شدند تا از فرار شته‌ها جلوگیری به عمل آید. برای یکسان سازی شرایط رشد، گیاهان تیمارهای بدون شته نیز توسط طلق‌های مشابه پوشیده شدند. بعد از گذشت ۱۵ روز از آلوده کردن گیاهان به شته، گیاهان به آرامی از سطح بستر کشت بریده شدند و شته‌های روی آن‌ها جمع‌آوری و در ظروف محتوی الکل اتیلیک ۷۵٪ ریخته شدند (Xie et al., 2014).

#### سنجش فاکتورهای رشدی گیاه:

فاکتورهای رشد گیاه از جمله ارتفاع گیاه، تعداد برگ‌ها، سطح برگ چهارم از پائین به عنوان شاخص سطح برگ گیاه، وزن تر ریشه و وزن تر اندام هوایی گیاه اندازه‌گیری شدند. ارتفاع گیاه توسط خط کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر و پس از برش از منطقه یقه گیاه اندازه‌گیری شد. در هر گیاه برگ چهارم از پائین توسط قیچی قطع شد و سپس شکل آن روی کاغذ شطرنجی رسم و مساحت آن محاسبه شد. نمونه‌های گیاهی پس از منجمد کردن در ازلت مایع و نگهداری در فریزر منهای  $80^{\circ}\text{C}$  جهت اندازه‌گیری سایر فاکتورها مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ استفاده شدند (Prasad et al., 2004; Xie et al., 2014).

#### اعمال تنش زیستی به گیاهان با شته: پس

از رشد گیاه و رسیدن به مرحله هشت برگگی، سطح پرلیت در گلدان‌ها با فویل آلومینیومی جهت جلوگیری از افتادن شته‌ها و گیر کردن آنها در لابلا پرلیت پوشیده شد. در این حالت آبیاری گیاهان توسط سرنگ با منفذ ریزی داخل فویل آلومینیوم انجام شد. برای شروع آزمایش با قلم‌مو شش عدد شته بالغ بی‌بال و هم سن روی گیاهان مربوطه گذاشته شدند. جهت هم سن سازی شته‌ها ابتدا تعدادی از شته‌های بالغ بی‌بال از کلنی انتخاب شدند و روی گیاهان جدید در قفس دیگری گذاشته تا تولیدمثل کنند. پس از گذشت ۲۴ ساعت شته‌های بالغ از روی گیاه حذف شدند و به پوره‌ها اجازه داده شد تا به مرحله بلوغ برسند، بدین ترتیب برای انجام آزمایش از شته‌های هم سن استفاده شد. در فاصله زمانی ۲۴ ساعت بعد از آلوده کردن گیاهان به شته، برای اطمینان از وجود شش عدد شته روی آن‌ها گیاهان به دقت بررسی شدند. در صورتی که تعداد شته‌ها به هر دلیلی کم‌تر از شش عدد بود تعداد آن‌ها با گذاشتن شته جبران شد. گیاهان با طلق‌های شفاف با قطر ۱۲/۵ و ارتفاع ۳۴ سانتی‌متر که در انتهای آن

گذشت این مدت با دستگاه EC متر میزان هدایت الکتریکی محلول بر حسب میکروزیمنس خوانده شد. بعد از آن لوله‌ها در اتوکلاو و این بار در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شلند. بعد از خنک شدن لوله‌ها و رسیدن به دمای  $25^{\circ}\text{C}$  میزان هدایت الکتریکی محلول دوباره خوانده شد. با گذاشتن اعداد به دست آمده در رابطه ۲ درصد نشت یونی به دست آمد (Ben Hamed et al., 2007).

#### رابطه ۲:

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{Ec_1}{Ec_2} \times 100$$

**تجزیه و تحلیل آماری:** تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS IBM نسخه ۲۲ انجام شد. از آنجایی که همه داده‌های به دست آمده به جز ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه و محتوی آب نسبی دارای توزیع نرمال بودند، برای تجزیه و تحلیل آن‌ها از آزمون پارامتریک تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده شد. جهت نرمال سازی پراکنش داده‌های مربوط به وزن تر اندام هوایی گیاه نیز پس از تبدیل به صورت لگاریتم پایه ۱۰ مورد تجزیه و تحلیل با آزمون پارامتریک تجزیه واریانس (ANOVA) و آزمون والد (Wald test) قرار گرفتند. داده‌های مربوط به ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه و محتوی آب نسبی نیز توسط آزمون Generalized Linear Models با توزیع Gamma log link تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

#### نتایج

نتایج کلی پژوهش نشان داد در چهار فاکتور ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه، وزن تر ساقه و تعداد برگ‌های گیاه، به خوبی تأثیر تنش زیستی شته بر

#### سنجش رنگی‌های فتوسنتزی: برای سنجش

رنگی‌های فتوسنتزی برگ، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها اندازه‌گیری شدند. روند کار به این صورت بود که ۰/۲ گرم از بافت برگ از هر گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد به خوبی سائیده شد تا بافت برگ با استن مخلوط شود. سپس محلول بطور جداگانه در لوله‌های فالکن با حجم ۱۵ میلی‌لیتر ریخته و در سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه در  $9000$  دور و در دمای  $9^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. سپس سنجش جذب محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر CONc 50 CARY در طول موج‌های  $646/8$ ،  $666/2$  و  $740$  نانومتر خوانده و ثبت شد. غلظت رنگی‌های کلروفیل و کارتنوئیدها از رابطه ۱ محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

#### رابطه ۱:

$$\text{chl a} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{chl b} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{chl T} = \text{chl a} + \text{chl b}$$

$$\text{car} = (1000 A_{470} - 1.8 \text{chl a} - 85.02 \text{chl b}) / 198$$

#### اندازه‌گیری محتوی آب نسبی و درصد

**نشت یونی:** نشت یونی با جدا کردن ۰/۲ گرم از بافت برگ گیاهان اندازه‌گیری شد. برگ‌ها پس از شستشو با آب دیونیزه برای شستشوی گرد و غبار از سطح برگ، درون لوله‌های فالکن با حجم ۱۵ میلی‌لیتر قرار داده شدند و ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آنها اضافه شد. سپس به مدت ۲ ساعت درون حمام آب گرم با دمای  $23^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند. پس از

بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار شاهد (۴۰ سانتی متر) و کمترین آن مربوط به تیمار نیکل (۳۵ سانتی متر) بود (شکل ۱ و جدول ۲). حضور شته روی گیاه سبب کاهش معنی دار ارتفاع گیاه گلرنگ به میزان ۱۳ درصد شد (جدول ۲ و شکل ۲). برهم کنش متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی دار بود (جدول ۲). نتایج اثر متقابل بین تیمارها نیز در جداول ۲ و ۴ بیان شده و در این جدول ها، اثر متقابل بین مقادیر سمی روی و نیکل در حضور یا عدم حضور تنش زیستی شته، در سطح معنی دار ۵ درصد معنی دار و قابل توجه بوده است (جدول ۲ و ۴)

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین و بررسی اثر متقابل شاخص های ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه و محتوی آب نسبی در گیاه گلرنگ تحت تأثیر تیمارهای روی و نیکل در حضور و عدم حضور شته گلرنگ، اعداد تیره و دارای علامت \* در سطح معنی دار ۵ درصد دارای تفاوت معنی دار هستند.

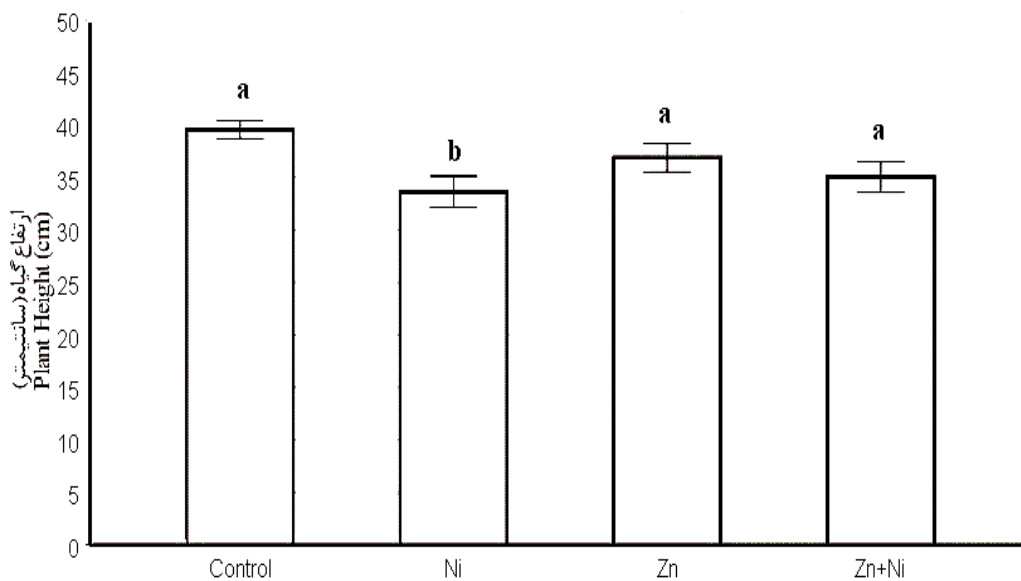
Table 2- Analyses of variance for plant height, root fresh weight and relative water content of safflower plant treated by Ni and Zn in the presence and absence of safflower aphids. Bold numbers indicate significant differences at the level of 5%.

متغیر	منابع تغییرات	درجه	$\rho$
Variables	Treatments	آزادی	
		df	
ارتفاع گیاه (cm/plant) Plant height	تیمار فلزات روی و نیکل Zn & Ni treatment	3	0.001°
	تیمار شته Aphid treatment	1	0.001°
	تیمار فلزات روی و نیکل × تیمار شته Zn & Ni × Aphid treatments	3	0.012°
	تیمار فلزات روی و نیکل Zn & Ni treatment	3	0.003°
وزن تر ریشه (g/plant) Root fresh weight	تیمار شته Aphid treatment	1	0.001°
	تیمار فلزات روی و نیکل × تیمار شته Zn & Ni × Aphid treatments	3	0.292
	تیمار فلزات روی و نیکل Zn & Ni treatment	3	0.356
	تیمار شته Aphid treatment	1	0.078
محتوی آب نسبی RWC (%)	تیمار فلزات روی و نیکل × تیمار شته Zn & Ni × Aphid treatments	3	0.316

تشدید تنش سنگین روی و نیکل معنی دار بوده است و جدول میانگین این چهار فاکتور ذکر شده در ۸ کد تیمار طبق جدول تیمارها در جدول ۴ ارائه شده است. در سایر فاکتورها، نمودارها به صورت جدا بر اساس تأثیر جداگانه یا توام تنش روی و نیکل بر اساس ۴ کد تیماری ارائه شده است.

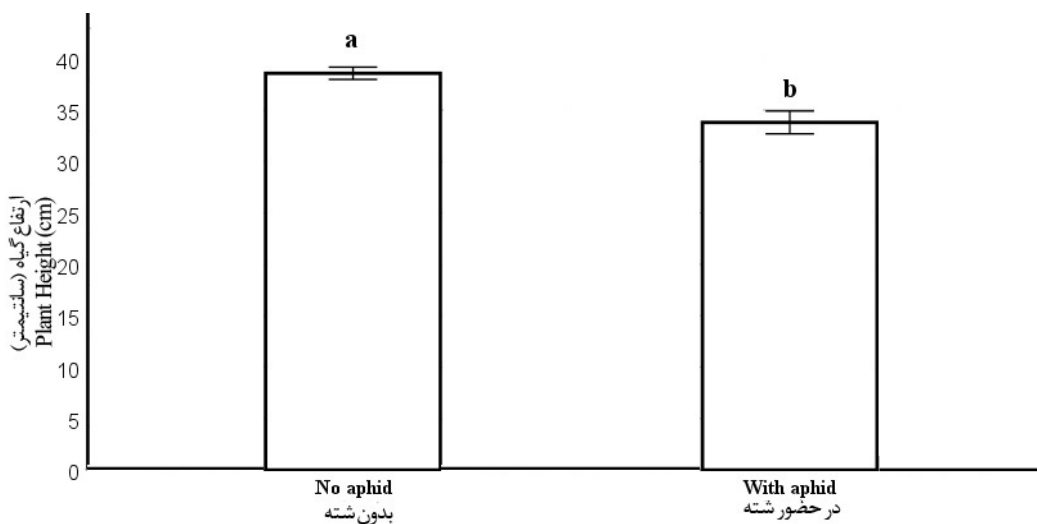
### تغییرات ارتفاع گیاه: با توجه به نتایج حاصل

از جدول تجزیه واریانس و جدول اثر متقابل تیمارها، اثر توام تیمارهای حاوی فلزات روی و نیکل در گیاهان دارای شته اختلاف معنی داری در ارتفاع گیاه گلرنگ ایجاد کرد (جدول ۲)؛ به طوری که



شکل ۱- مقایسه تغییرات میانگین ارتفاع گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی‌دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 1- Comparison for mean plant height of safflower treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).



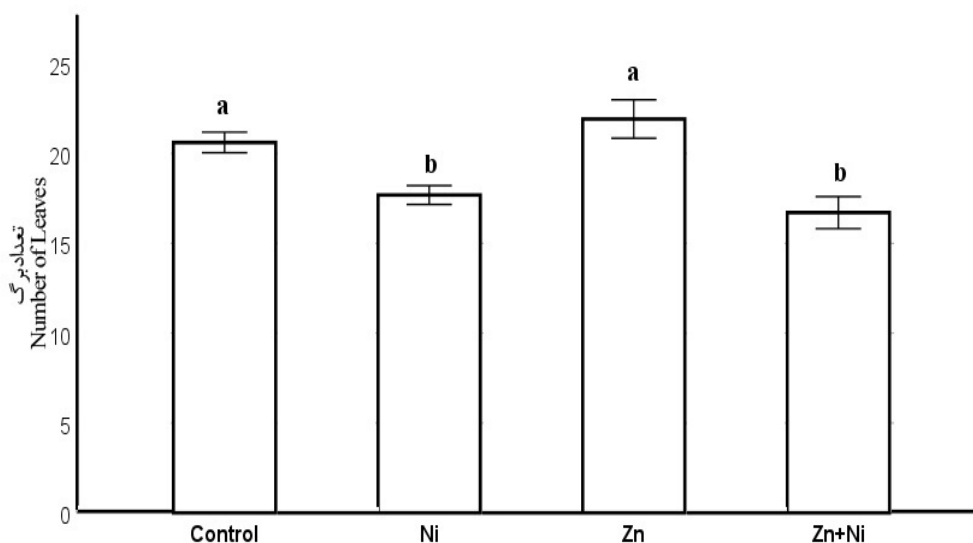
شکل ۲- مقایسه تغییرات میانگین ارتفاع گیاه گلرنگ در حضور و عدم حضور شته گلرنگ، حروف غیر مشترک بیانگر معنی‌دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 2- Comparison for mean plant height of safflower in the presence and absence of safflower aphid. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

**تعداد برگ گیاه:** تجزیه واریانس و جدول

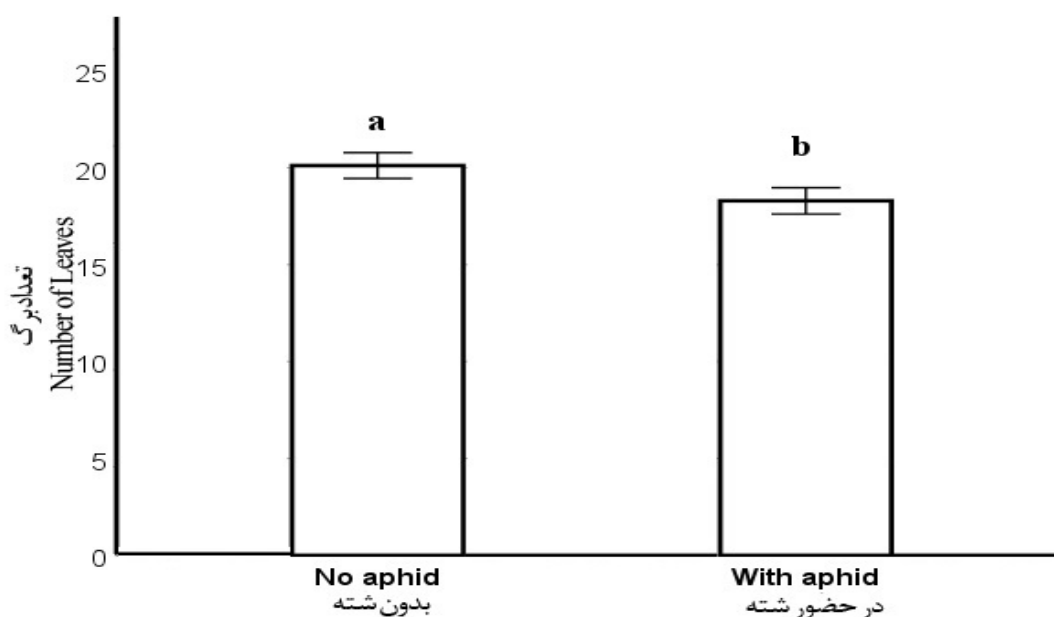
مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند تنش تیمارهای فلز روی و نیکل به حضور یا بدون شته اثر معنی‌داری بر تعداد برگ گیاه داشت (جدول ۳ و ۴)، به گونه‌ای که تیمارهای حاوی فلز نیکل سبب کاهش معنی‌داری ۱۵ درصد در تعداد برگ‌های گیاه

گلرنگ شدند (شکل ۳). همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان دادند حضور شته نیز بر روی گیاه، به طور معنی‌داری سبب کاهش ۲۰ درصدی تعداد برگ گیاه نسبت به شاهد شد (جدول ۳ و شکل ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان دادند تأثیر شته در حضور دو یون سمی سبب کاهش بیشتر و تشدید تنش فلز سنگین شد (جدول ۳ و ۴)



شکل ۳- مقایسه تغییرات میانگین تعداد برگ در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی‌دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 3- Comparison for mean number of leaves of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).



شکل ۴- مقایسه تغییرات میانگین تعداد برگ در گیاه گلرنگ در حضور و عدم حضور شته گلرنگ، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 4- Comparison for mean number of leaves of safflower plant in the presence and absence of safflower aphid. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

همچنین حضور شته، سبب کاهش ۲۶ درصدی معنی دار وزن تر ریشه شد (شکل ۵ و جدول ۴). اثر متقابل بین تیمارهای حاوی فلزات روی و نیکل و تنش شته در ساقه، دارای اثر معنی دار قابل توجه بود و حضور شته در شرایط تنش روی و نیکل منجر به کاهش قابل توجه وزن تر ریشه شد و حساسیت گیاه در اینجا به تنش نیکل و ریشه بیشتر مشاهده شد (جدول ۱ و ۴).

**وزن تر ریشه:** مقایسه نتایج وزن تر ریشه به همراه سایر فاکتورهای رشد و نیز بررسی نتایج این فاکتور با نمونه‌های تازه تحت تیمار نشان دادند تیمارهای حاوی عناصر روی و نیکل در حضور تنش شته، اثر معنی داری بر وزن تر ریشه داشتند (جدول ۱ و ۴)، به طوری که تیمار نیکل سبب کاهش ۳۵ درصدی و معنی دار وزن تر ریشه شد و اختلاف معنی داری با شاهد نشان داد (شکل ۵).

جدول ۳- تجزیه واریانس میانگین و بررسی اثر متقابل برخی شاخص‌های رشدی و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه گلرنگ تحت تأثیر تیمارهای روی و نیکل در حضور و عدم حضور شته گلرنگ.

Table 3- Analyses of variance for some growth parameters and photosynthetic pigments content of safflower treated by Ni and Zn in the presence and absence of safflower aphids.

منابع تغییرات Sources of variation	df	تعداد برگ گیاه No. plant leaves	وزن تر اندام هوایی گیاه Plant aerial parts fresh weight (g/plant)	سطح برگ (cm <sup>2</sup> ) Leaf surface	درصد نشت یونی (%) ion leakage
Block بلوک	6	3.397 <sup>ns</sup>	0.029 <sup>ns</sup>	13666.6 <sup>ns</sup>	16.91 <sup>ns</sup>
تیمار فلزات روی و نیکل Zn & Ni treatment	3	84.836 <sup>**</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	109448.5 <sup>ns</sup>	2204.41 <sup>**</sup>
تیمار شته Aphid treatment	1	57.628 <sup>*</sup>	0.112 <sup>*</sup>	12558.4 <sup>ns</sup>	130.09 <sup>ns</sup>
تیمار فلزات روی و نیکل × تیمار شته Zn & Ni × Aphid treatments	3	6.146 <sup>ns</sup>	0.017	12143.4 <sup>ns</sup>	24.09 <sup>ns</sup>
خطا Error	39	322.145	0.025	47517.5	189.6
منابع تغییرات Sources of variation	df	کلروفیل کل Total Chlorophyll (μg/FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (μg/FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (μg/FW)	کارتنوئیدها Carotenoid (μg/FW)
Block بلوک	2	81.93 <sup>ns</sup>	44.92 <sup>ns</sup>	5.59 <sup>ns</sup>	3.21 <sup>ns</sup>
تیمار فلزات روی و نیکل Zn & Ni treatment	3	904.55 <sup>**</sup>	445.78 <sup>**</sup>	84.3 <sup>**</sup>	19.29 <sup>**</sup>
تیمار شته Aphid treatment	1	26.56 <sup>ns</sup>	8.68 <sup>ns</sup>	4.87 <sup>ns</sup>	0.016 <sup>ns</sup>
تیمار فلزات روی و نیکل × تیمار شته Zn & Ni × Aphid treatments	3	30.97 <sup>ns</sup>	7.85 <sup>ns</sup>	7.8 <sup>ns</sup>	0.678 <sup>ns</sup>
خطا Error	14	49.79	22.31	7.48	1.413

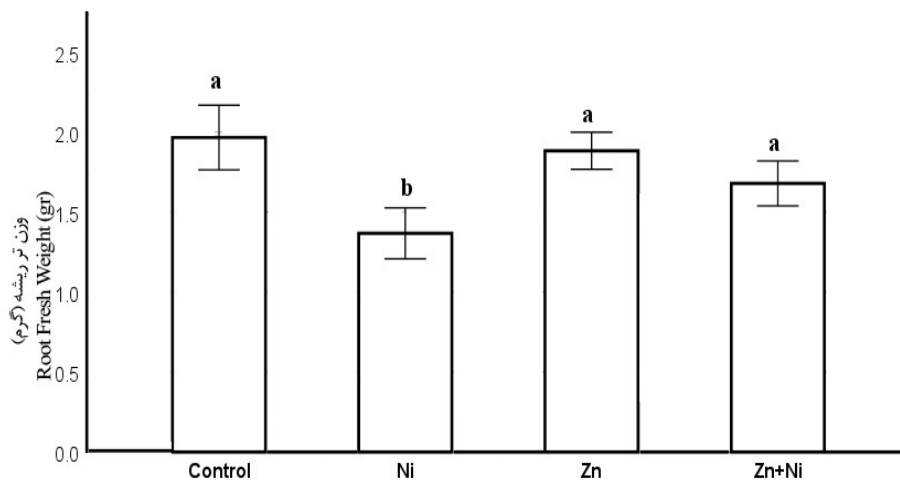
ns, \*, \*\* و \*\*\* به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

ns, \* and \*\*: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین فاکتورهای که تأثیر متقابل بین سه فاکتور شته، روی و نیکل بر آنها معنی‌دار بوده است. حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون و فاکتور بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد است.

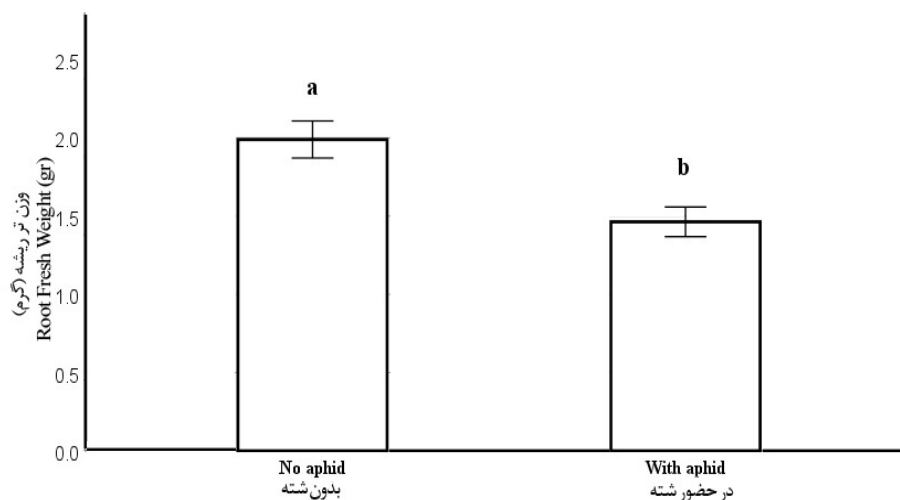
Table 4- Comparison of the average parameters on which the interaction between the three factors of aphid, zinc and nickel was significant. Non-similar Latin letters in each column and parameter indicate a significant difference based on Duncan's test at a significant level of 5%.

ترکیب تیمارهای آزمایش Combination of experimental treatments			وزن تر ریشه Root FW (g/plant)	ارتفاع گیاه Shoot length (cm/plant)	وزن تر اندام هوایی گیاه Shoot FW (g/plant)	تعداد برگ گیاه No. plant leaves
حضور شته گلرنگ بر روی گیاه The presence of safflower aphid on the plant	غلظت نیکل [Ni <sup>2+</sup> ] (M)μ	غلظت روی [Zn <sup>2+</sup> ] (M)μ				
-	0	0	2.51±0.15 <sup>a</sup>	43.5±1.25 <sup>a</sup>	3.63±0.15 <sup>a</sup>	23.5±1.15 <sup>ab</sup>
-	300	0	1.52±0.15 <sup>bc</sup>	35.2±1.85 <sup>d</sup>	2.21±1.85 <sup>c</sup>	19.1±1.45 <sup>c</sup>
-	0	300	2.11±0.03 <sup>b</sup>	38.2±1.91 <sup>b</sup>	3.12±0.05 <sup>b</sup>	25.2±1.41 <sup>a</sup>
-	300	300	1.12±1.35 <sup>c</sup>	37.1±1.35 <sup>c</sup>	2.11±1.35 <sup>c</sup>	17.1±0.85 <sup>d</sup>
+	0	0	1.22±0.09 <sup>a</sup>	36.8±1.02 <sup>c</sup>	3.12±0.12 <sup>c</sup>	16.8±0.55 <sup>c</sup>
+	300	0	1.38±0.08 <sup>d</sup>	32.8±1.04 <sup>c</sup>	1.82±0.07 <sup>fg</sup>	13.8±0.61 <sup>fg</sup>
+	0	300	1.62±0.07 <sup>c</sup>	33.2±1.11 <sup>c</sup>	3.02±1.11 <sup>cd</sup>	14.3±0.82 <sup>fg</sup>
+	300	300	0.83±0.02 <sup>f</sup>	31.1±1.20 <sup>f</sup>	1.85±0.07 <sup>fg</sup>	13.1±0.75 <sup>h</sup>



شکل ۵- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر ریشه در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 5- Comparison for mean root fresh weight of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).



شکل ۶- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر ریشه در گیاه گلرنگ در حضور و عدم حضور شته گلرنگ، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

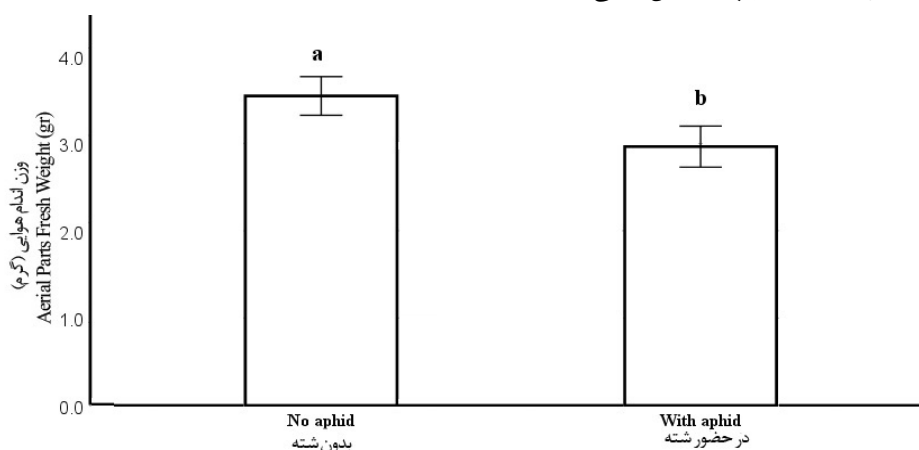
Figure 6- Comparison for mean root fresh weight of safflower plant in the presence and absence of safflower aphid. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

داده‌ها نشان دادند حضور شته بر تغییر فاکتور وزن تر اندام هوایی گیاه گلرنگ تحت تنش روی و

وزن تر اندام‌های هوایی گیاه: بررسی جداول میانگین و اثر متقابل پس از نرمال‌سازی



حدود ۱۵ درصد در این شاخص رشد نسبت به شرایط کنترل شد (جدول ۴، شکل ۷). همچنین اثر متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی دار نبود (جدول ۳).



شکل ۷- مقایسه تغییرات میانگین وزن تر اندام‌های هوایی گیاه گلرنگ در حضور و عدم حضور شته گلرنگ، حروف غیر مشترک بیانگر اثر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 7- Comparison for mean aerial parts fresh weight of safflower plant in the presence and absence of safflower aphid. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

داده‌های مربوط به نشت یونی نشان دادند تیمار گیاه با فلزات روی و نیکل اثر معنی‌داری بر این شاخص داشت (جدول ۳)، بدین صورت که تیمارهای دارای فلز نیکل سبب افزایش معنی‌دار نشت یونی شدند (شکل ۸) و حضور شته سبب تغییر در درصد نشت یونی گیاه گلرنگ نشد (جدول ۳). اثر متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

**کلروفیل کل:** تیمار فلزات روی و نیکل تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل کل برگ گیاهان تحت تیمار داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان دادند تیمارهای دارای فلز نیکل منجر به کاهش معنی‌دار ۵۸ درصدی در محتوای کلروفیل کل گیاه

نیکل تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۴). به هر حال، تیمار با تنش عناصر روی و نیکل در حضور شته اثر معنی‌داری بر وزن تر اندام‌های هوایی گیاه گلرنگ داشت و تنش غیر زیستی در حضور شته تشدید شد (جدول ۴). حضور شته سبب کاهش معنی‌دار در

### سطح برگ: تیمارهای حاوی مقادیر سمی

روی و نیکل به همراه تنش زیستی شته اثر معنی‌داری بر اندازه سطح برگ گیاه گلرنگ نداشتند (جدول ۳). برهم‌کنش متقابل بین دو تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳).

### محتوی آب نسبی برگ: تیمارهای فلزات

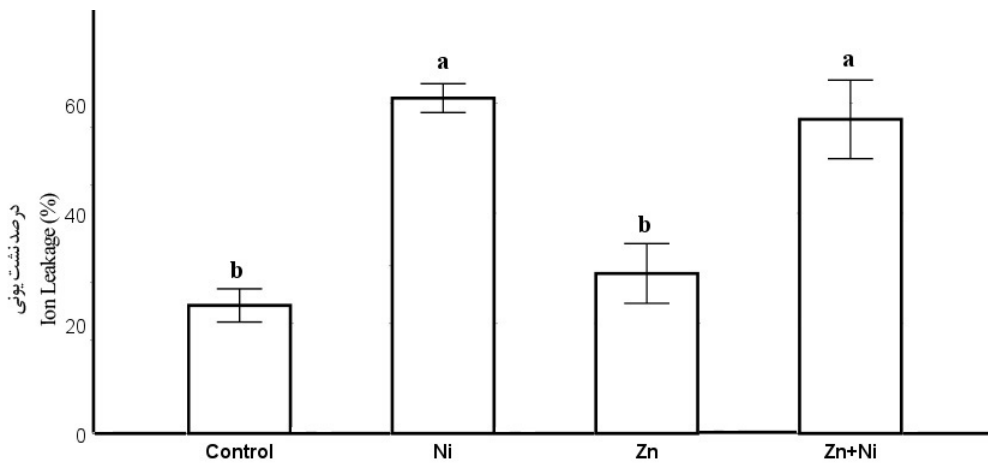
روی و نیکل و نیز تنش زیستی شته اثر معنی‌داری بر محتوی آب نسبی گیاه نداشتند (جدول ۲). برهم‌کنش متقابل بین دو تیمار فلزات روی و نیکل و حضور شته هم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲).

### درصد نشت یونی: نتایج تجزیه واریانس

بدین صورت که تیمارهای دارای فلز نیکل سبب کاهش معنی دار ۵۵ درصدی این شاخص شدند. بیشترین محتوای کلروفیل a در شاهد (۲۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در تیمارهای دارای نیکل بود. تیمار با روی نیز در حد بینابین قرار داشت (شکل ۱۰). حضور شته سبب اختلاف معنی داری در این شاخص نشد (جدول ۳). بر هم کنش متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی داری نبود (جدول ۳).

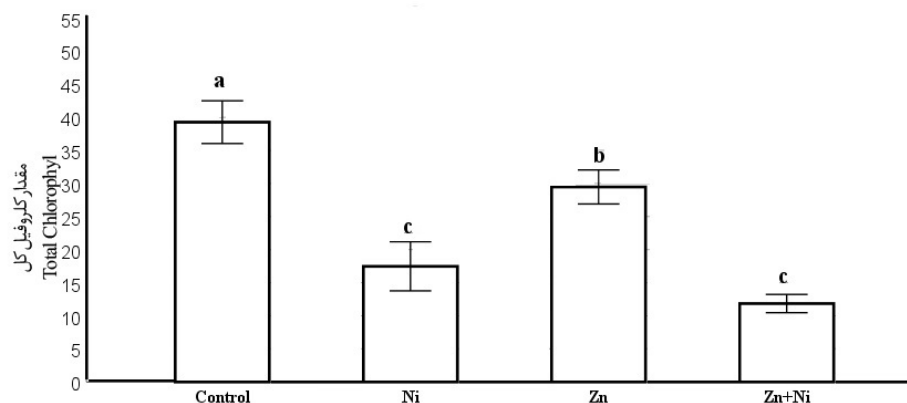
شده‌اند، به طوری که بیشترین محتوای کلروفیل کل در تیمار شاهد در حدود ۴۰ میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده شد. همچنین تیمار گیاه با فلز روی نیز سبب کاهش معنی دار کلروفیل کل شد (شکل ۹). وجود شته تأثیر معنی داری بر این شاخص نداشت (جدول ۳). اثر متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی دار نبود (جدول ۳).

**کلروفیل a:** تیمار با فلزات روی و نیکل تأثیر معنی داری بر شاخص کلروفیل a داشت (جدول ۳)،



شکل ۸- مقایسه تغییرات میانگین درصد نشت یونی در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 8- Comparison for mean percentage of ion leakage of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).



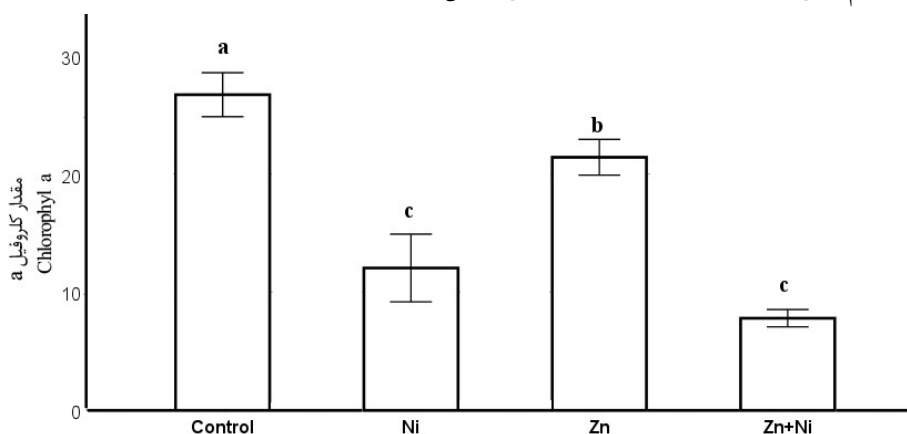
شکل ۹- مقایسه تغییرات میانگین کلروفیل کل در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 9- Comparison for mean total chlorophyll of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicatesignificant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error.

مشاهده شد (شکل ۱۱). تیمار با فلز روی نیز سبب کاهش معنی دار محتوای کلروفیل b شد. اثر متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی دار نبود (جدول ۳). تنش نیکل به تنهایی سبب کاهش ۵۶ درصدی میزان این فاکتور برگ شد.

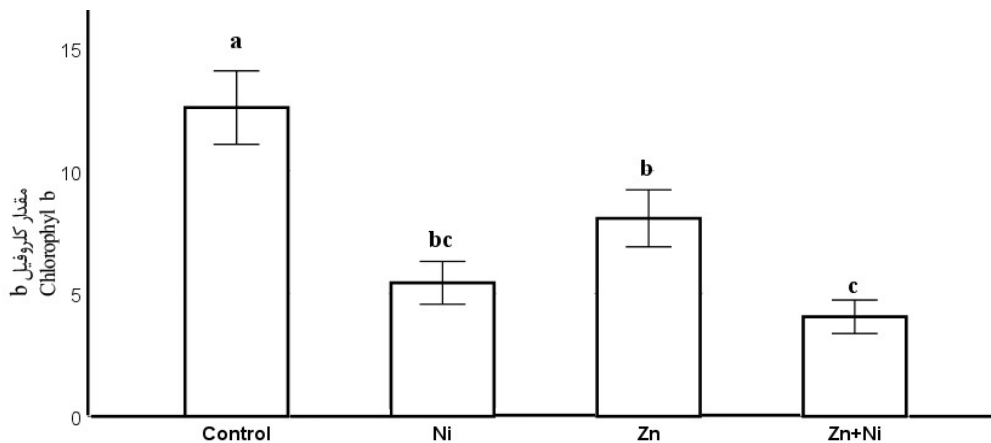
### کلروفیل b: کاربرد تیمارهای حاوی روی و

نیکل تأثیر معنی داری بر این شاخص برگی داشت، ولی حضور شته تغییری در این شاخص ایجاد نکرد (جدول ۳). بیشترین محتوای کلروفیل b در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمارهای دارای تنش نیکل



شکل ۱۰- مقایسه تغییرات میانگین محتوای کلروفیل a در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای ا هستند.

Figure10- Comparison for mean chlorophyll a of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

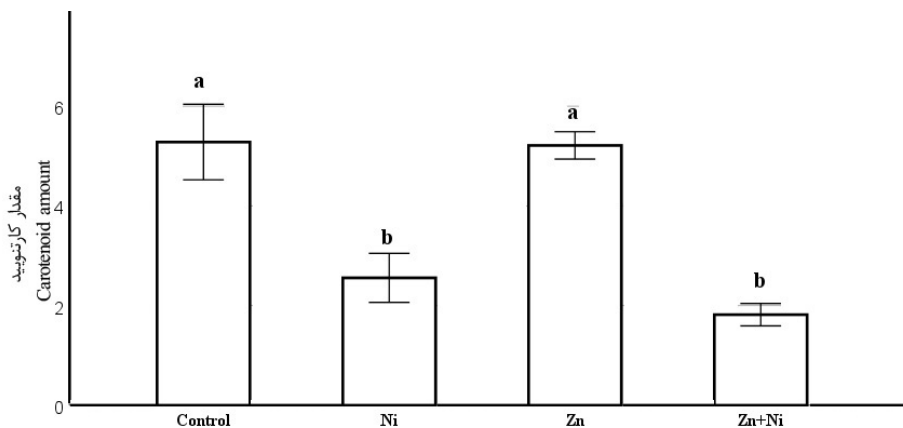


شکل ۱۱- مقایسه تغییرات میانگین محتوای کلروفیل b در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 11- Comparison for mean chlorophyll b of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

تیمار زیستی شته تفاوت معنی داری در شاخص مقدار کارتنوئیدها موجود در گیاه گلرنگ ایجاد نکرد (جدول ۳). اثر متقابل بین تیمار فلزات روی و نیکل و تنش شته دارای اثر معنی دار نبود (جدول ۳). تیمار تنش زای نیکل توام با روی سبب کاهش ۶۸ درصدی نسبت به گیاهان شاهد شد.

**کارتنوئیدها:** تیمار با فلزات روی و نیکل سبب تأثیر معنی داری بر محتوای کارتنوئیدهای موجود در گیاهان تحت تیمار شد (جدول ۳)، به گونه‌ای که تیمارهای دارای فلز نیکل سبب کاهش معنی داری در این شاخص نسبت به شاهد شدند (شکل ۱۲).



شکل ۱۲- مقایسه تغییرات میانگین محتوای کارتنوئید در گیاه گلرنگ در تیمارهای مختلف فلزات روی و نیکل، حروف غیر مشترک بیانگر معنی دار بودن ( $P < 0.05$ ) بر اساس آزمون دانکن و خطوط بار نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 12- Comparison for mean carotenoid of safflower plant treated by Ni and Zn. Different letters indicate significant difference based on Duncan post hoc test ( $P < 0.05$ ), Error bars show standard error (SE).

## بحث

نتایج ارائه شده در جداول ۲ و ۳، اثر متقابل و همزمان تیمارها، تحلیل واریانس و مقایسه آنها بیانگر وجود تأثیر نیکل بر ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر ریشه، درصد نشست یونی، محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدها بود؛ بدین گونه که نیکل منجر به کاهش تمامی این فاکتورها و افزایش درصد نشست یونی شد (جداول ۲ و ۴، نمودار ۱). تیمار گیاهان با مقادیر اضافی روی، بطور مستقیم اثری بر اغلب فاکتورهای گیاه گلرنگ نداشت و تنها اثر معنی دار این فلز بر روی محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی بود. همچنین طبق جدول اثر متقابل تیمارها، وجود تنش زیستی شته سبب تأثیر منفی بر فاکتورهای رشدی گیاه گلرنگ شد. تغییرات ناشی از تیمار فلزات نیکل و روی را می‌توان این گونه توضیح داد که فلزات سنگین فرآیندهای متابولیکی را با ممانعت از عمل آنزیم‌ها کاهش می‌دهند (Amini & Amirjani, 2013). یکی از آسیب‌های بافتی مهم در گیاهانی که تحت تنش فلزات سنگین هستند، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است (Callahan *et al.*, 2005; Rabie, 2005; Mohammadhasani *et al.*, 2020). نتایج پژوهش‌های Khafi و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند با افزایش غلظت کلرید نیکل، طول اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و نیز محتوای آب نسبی کاهش نشان می‌دهد. علاوه بر تأثیر نیکل بر فاکتورهای رشدی و فیزیولوژیک گیاه، تنش با این فلز سبب بوجود آمدن علائم ظاهری مانند کلروز و نکروز شدن برگ‌ها شد. این نتیجه با پژوهش Saeidi Sar و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد؛ به طوری که علائم سمیت نیکل از جمله نکروز و

تشکیل لکه‌های قرمز متمایل به قهوه‌ای در سطح برگ‌های گیاه سویا بروز کرد و حتی در غلظت‌های یک میلی مولار نیکل اکثر برگ‌ها پژمرده شده و از بین رفتند. پژوهشگران دیگر نیز تأثیر تنش نیکل بر تغییرات فیزیولوژیک و بیان ژن‌ها در مرکبات گزارش کردند.

فلز روی نقش مهمی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیک گیاه دارد؛ اما مانند سایر فلزات سنگین غلظت زیاد آن در خاک و در گیاه سبب عدم رشد طبیعی گیاه می‌شود (Mohammadhasani *et al.*, 2020). در حالی که غلظت روی در برگ بیش از ۴۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه باشد سبب بروز نقاط نکروزه روی برگ و در غلظت‌های بالاتر سبب مرگ گیاه می‌شود (Rion & Alloway, 2004). روی بر خلاف عناصری مانند آهن و مس در گیاهان تنها به صورت  $Zn^{2+}$  وجود دارد و در واکنش‌های اکسید و احیا شرکت نمی‌کند (Vallee & Auld, 1990). عملکرد متابولیکی روی، براساس تمایل شدید آن برای تشکیل کمپلکس‌های چهار وجهی با عناصری مثل اکسیژن، نیتروژن و بویژه گوگرد در اسیدهای آمینه مانند سیستین است، بنابراین عنصر روی در بسیاری از سیستم‌های آنزیمی گیاه نقش کاتالیزوری، فعال‌کنندگی و یا ساختمانی دارد (Broadley *et al.*, 2007).

سازوکار تأثیر فلزات سنگین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی ممکن است به چهار دلیل باشد؛ الف) فلزات سنگین جذب و انتقال سایر عناصر ضروری مانند  $Fe^{2+}$ ،  $Mn^{2+}$  و  $Zn^{2+}$  را مهار می‌کنند و از این روش ظرفیت سنتز رنگدانه‌ها در برگ‌ها تحت تأثیر

با افزایش غلظت نیکل، محتوای کلروفیل برگ‌ها در گیاه جعفری کاهش می‌یابد (Khatib *et al.*, 2008). هم‌چنین Gadallah (۱۹۹۴) و Gaur & Sharma (۱۹۹۵) نیز به نتایج مشابهی در گیاه تیمار شده با نیکل رسیدند (Gadallah, 1994; Ranjbar, Sharma & Gaur, 1995) و همچنین (۲۰۲۰) نیز به این نتیجه رسیدند مقادیر نیکل و سرب به کار رفته در آزمایش هرچند سبب کاهش طول گیاه، وزن گیاه و محتوای کارتنوئیدها نشدند، اما محتوای کلروفیل (a, b و کل) بطور معنی‌داری کاهش یافت (Ranjbar *et al.*, 2020). از سوی دیگر ثابت شده است کاربرد غلظت‌های پائین برخی فلزات مانند کادمیوم، سرب و نیکل می‌تواند سنتز کلروفیل را تسهیل کند (Nyitrai *et al.*, 2003). از سوی دیگر، پژوهش‌ها نشان دادند نیکل بر متابولیسم نیتروژن در گیاه نقش موثری دارد، به‌طوری‌که بررسی روی عکس‌العمل گوجه‌فرنگی و سویا نیز نتیجه فوق را تایید نموده است (Shimada & Ando, 1980).

تیمار گیاه گلرننگ با فلز نیکل، سبب کاهش ارتفاع و تعداد برگ در گیاهان تحت تیمار با این فلز شد. نیکل با تأثیر منفی روی ساختار و عملکرد ریشه و کاهش سطوح جذب‌کننده آب و املاح سبب کاهش جذب آب و ایجاد تنش خشکی ثانویه در گیاهان می‌شود (Parida *et al.*, 2003)، که این نیز در نهایت سبب کاهش شاخص‌های رشدی گیاه مانند تعداد برگ می‌شود. کاهش سطح برگ در اثر کاربرد فلزات سنگین در برخی پژوهش‌ها مشاهده شده است (Molas & Baran, 2004)، اما در این پژوهش این گونه نبود.

قرار می‌گیرد (Gardea-Torresdey *et al.*, 2004; Romero-Puertas *et al.*, 2004). فلزات سنگین و تجمع آنها داخل کلروپلاست ممکن است تنش‌های اکسیداتیو ایجاد شود که در نهایت سبب پراکسیداسیون کلروپلاست می‌شود (Hao *et al.*, 2006; Seregin & Kozhevnikova, 2006). فلزات سنگین بطور مستقیم ساختار و عملکرد کلروپلاست‌ها را با اتصال به گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها از هم گسیخته و در نهایت بیوسنتز کلروفیل را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Srivastava *et al.*, 2006). ثابت شده که فلزات سنگین حداقل در یکی از مراحل آنزیمی بیوسنتز کلروفیل تأثیرات مهارکنندگی مستقیم دارند (Singh, 1995).

کاهش محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی در اثر تنش ناشی از فلزات روی و نیکل ممکن است نتیجه ممانعت آنزیم‌های مسئول در بیوسنتز کلروفیل باشد (Manio *et al.*, 2003; Prasad & Freitas, 2003; Zengin & Munzuroglu, 2005). فلزات سنگین به شدت سبب مهار فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و کاهش تجمع کلروفیل می‌شوند (Ouzoundi *et al.*, 1995; Prasad & Freitas, 2003). برخی دیگر از فلزات سنگین مانند کادمیوم با تداخل در فرآیند تولید پروتوکلروفیلید مانع تشکیل کلروفیل می‌شوند (Prasad *et al.*, 2004). این کاهش فتوسنتز در رابطه با سایر فلزات نظیر سرب، مس و جیوه نیز گزارش شده است (Heckathorn *et al.*, 2004; Kambhampati *et al.*, 2005; Zengin & Munzuroglu, 2005; Amini & Amirjani, 2013). نتایج حاصل از این پژوهش نیز با نتایج سایر پژوهش‌ها همخوانی دارد. به عنوان مثال Khatib و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند

(2005, *et al.*). همچنین افزایش نشت یونی در معرض سطوح بالای نیکل ممکن است در نتیجه افزایش تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال، افزایش پراکسیداسیون لیپید و در نتیجه آسیب غشای سلولی باشد (Baccouch *et al.*, 1998). تنش زیستی توسط آفات و بیماری‌های گیاهی، اثرات منفی متفاوتی بر روی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه میزبان دارد (Mansouri *et al.*, 2020). با توجه به پژوهش حاضر، وجود شته بر روی گیاه گلرنگ به عنوان یک تنش زیستی، سبب کاهش فاکتورهای رشدی و اثر منفی روی برخی فاکتورهای فیزیولوژیکی گیاه شد. گیاهان همیشه در معرض حمله حشرات آفت هستند، به طوری که بیشترین خسارت را از این موجودات می‌بینند (Gullan & Cranston, 2014). حشرات به علت تغذیه از همه قسمت‌های گیاه و در همه مراحل رشدی، گیاهان را به سمت نابودی برده و منجر به کاهش رشد اندام‌های هوایی و ریشه‌ها، افزایش حساسیت گیاه به عوامل بیماری‌زا و کاهش توانایی رقابت گیاهان نسبت به سایر گیاهان می‌شوند (van Emden & Harrington, 2009; Mehrparvar *et al.*, 2008; Blackman & Eastop, 2023). به طور کلی نتایج این تحقیق نشان دادند اگر گیاه مورد نظر در شرایط بهینه رشد و تغذیه مناسب قرار گیرد، مقاومت بیشتری در هنگام بروز تنش زیستی مانند شته خواهد داشت و حضور تنش فلزات سنگینی مانند روی و نیکل سبب حساسیت بیشتری، از لحاظ رشد و فیزیولوژیکی، در زمان حمله آفات و علف‌خواران می‌شود. نتایج کلی پژوهش نشان دادند در چهار فاکتور ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه، وزن تر ساقه و تعداد برگ‌های گیاه به خوبی تأثیر تنش زیستی شته

در پژوهش حاضر، در اثر تیمار گیاهان با نیکل وزن تر ریشه کاهش یافت. افزایش نیکل در گیاه سبب تغییر در ساختار غشای سلول‌های ریشه، کاهش سطوح جذب کننده آب و کاهش فرآیند فتوسنتز می‌شود که در نهایت منجر به کاهش رشد و وزن اندام‌های گیاه می‌شود (Sharma & Madhulika, 2005; Fuentes *et al.*, 2007). پژوهش‌ها نشان دادند کاهش بیومس گیاهان در اثر نیکل ناشی از تغییرات فرآیندهای متابولیکی القا شده توسط فلز نیکل و کاهش محتوای آب است (Pourakbar & Ebrahimzade, 2014). برخی دیگر از پژوهش‌ها نیز بیانگر کاهش زیست توده گیاه در اثر فلزات سنگین از جمله نیکل بوده‌اند (Parida *et al.*, 2003; Molas & Baran, 2004; Papazoglou *et al.*, 2005; Fuentes *et al.*, 2007; Khatib *et al.*, 2008; Pourakbar & Ebrahimzade, 2014; Fatemi & Esmailpour, 2021).

یکی دیگر از معمول‌ترین علائم سمیت فلز نیکل، افزایش نشت یونی است (Sharma & Madhulika, 2005). در این پژوهش تیمار گیاهان با فلز نیکل سبب افزایش معنی‌دار نشت یونی در گیاه گلرنگ شد. پژوهش‌های دیگر نیز چنین نتیجه‌ای را تأیید نموده‌اند، برای مثال Shaker-Kouhi و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند با افزایش غلظت نیکل در خاک، میانگین نشت یونی برگ جو به طور معنی‌داری افزایش یافت (Shaker-Kouhi *et al.*, 2021). همچنین گزارش شده است که قرار گرفتن در معرض نیکل (۵۰ میکرومولار) منجر به افزایش نشت الکترولیت‌ها در برگ گندم نسبت به تیمار شاهد می‌شود (Gajewska *et al.*, 2013). افزایش غلظت فلز نیکل در خاک سبب تخریب دیواره سلولی می‌شود و این تخریب منجر به افزایش تراوش الکترولیت می‌شود (Azevedo

فلزات سنگین، می‌تواند حساسیت پذیری گیاهان را به تنش‌های زیستی مانند علف‌خواری و حمله آفاتی مانند شته را افزایش دهد و مقاومت و رشد گیاه را کاهش دهد. بنابراین در پژوهش حساسیت گیاهان زراعی مانند گلرنگ به آفات، باید به موضوع وجود یا عدم وجود و نیز اثر متقابل تنش‌های احتمالی مهمی مانند فلزات سنگین مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین می‌توان با بررسی یا افزایش مقاومت گیاهان به تنش احتمالی فلز سنگین، افزایش مقاومت به آفات را در محیط‌های آلوده افزایش داد و سبب کاهش استفاده از سموم کشاورزی در این زمینه شد. به عبارت دیگر با افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی احتمالی مانند سمیت فلزات یا تنش‌های دیگر، مقاومت آنها به تنش‌های زیستی مانند شته نیز افزایش می‌یابد. اعمال تنش فلزات سنگین در این پژوهش به ویژه نیکل سبب کاهش رشد و افزایش حساسیت گیاه به تنش زیستی و گیاه‌خواری شته گلرنگ شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از یک پژوهش مربوط پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان انجام شده است.

### References

Amini, F., & Amirjani, M. R. (2013) Effect of Ni and Pb on chlorophyll content and metals accumulation in *Medicago sativa*. *Journal of Crop Production and*

بر تشدید تنش سنگین روی و نیکل معنی دار بوده است.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر تأثیر معنی‌دار و توأم عناصر نیکل، روی و نیز تنش زیستی شته بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه گلرنگ است که سبب کاهش زیست‌توده و عملکرد گیاهان گلرنگ نسبت به گیاهان شاهد و شرایط بهینه رشد گیاه شد. به‌رحال مقایسه آماری داده‌های پژوهش نشان دادند تأثیر تنش زای عنصر نیکل از عنصر روی بر ایجاد حساسیت و کاهش رشد قابل توجه‌تر بود و سبب حساسیت بیشتر گیاه گلرنگ به حمله و علف‌خواری شته گلرنگ شد. همچنین در این شرایط، کاهش رشد گیاه و علائمی مانند کلروزگی و نکروزه شدن برگ‌ها نیز در اثر کاربرد مقادیر سمی نیکل نسبت به شاهد به خوبی مشاهده شد. بررسی اثر متقابل بین فاکتورهای آزمایش بر فاکتورهای سنجش شده نشان دادند اثر متقابل تیمار با فلزات سنگین و تنش زیستی شته بر فاکتورهای ارتفاع گیاه و تعداد برگ و سایر شاخص‌های رشد معنی‌دار بود و این بدین معنی است که این دو تنش علاوه بر اثرات جداگانه خود دارای اثر توأم و افزایشی بر این فاکتورهای رشد مهم بودند. وجود برخی عوامل تنش‌زای غیرزیستی

*Processing*, 2, 11-20. [in Persian].

[https://doi:](https://doi.org/10.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2)

20.1001.1.22518517.1391.2.6.2.2

Azevedo, H., Gomes, C., Pinto, G., & Santos, C. (2005) Cadmium effects in sunflower: membrane permeability and changes in catalase and peroxidase



- activity in leaves and calluses. *Journal of Plant Nutrition*, 28, 2233-2241. <https://doi.org/10.1080/01904160500324816>
- Baccouch, S., Chaoui, A., & El Fergani, E. (1998) Nickel-induced oxidative damage and antioxidant responses in *Zea mays* shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36, 689-694. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(98\)80018-1](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(98)80018-1)
- Baghban, A., Sendi, J. J., Zibae, A., & Khosravi, R. (2014) Effect of heavy metals (Cd, Cu, and Zn) on feeding indices and energy reserves of the cotton boll worm *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54, 367-373. <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0055>
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation*, 53, 185-194. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9217-8>
- Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2023) *Aphids on the World's Plants: An online identification and information guide*. (2th ed), Wiley, Inc. <https://aphidsonworldsplants.info/>
- Boyd, R. S. (2010) Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 46-58. <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9730-5>
- Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A. (2007) Zinc in plants. *New Phytologist*, 173(4), 677-702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>
- Brown, P. H., Welch, R. M., & Cary, E. E. (1987). Nickel: A micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiology*, 85(3), 801-803. <https://doi.org/10.1104/pp.85.3.801>
- Callahan, D. L., Baker, A. J. M., Kolev, S. D., & Wedd, A. G. (2005) Metal ion ligands in hyper accumulating plants. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 11, 2-12. <https://doi.org/10.1007/s00775-005-0056-7>
- Duruibe, J., Ogwuegbu, M., & Egwurugwu, J. (2007) Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 85, 112-118
- Fatemi, H., & Esmailpour, B. (2021) Investigation of biological and non-biological interaction on enzymatic and non-enzymatic antioxidant of coriander (*Coriandrum sativum*) under Pb stress condition. *Journal of Plant Research*, 34, 592-604 [in Persian]. <https://doi.org/10.1001.1.23832592.1400.34.3.2.3>
- Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J., & Vallejo, V. R. (2007) Response of *Pinus halepensis* Mill. seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. *Environmental Pollution*, 145, 316-323. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.005>
- Gadallah, M. A. A. (1994) Interactive effect of heavy metals and temperature on the growth and chlorophyll, saccharides and soluble nitrogen contents in *Phaseolous vulgaris*. *Biologia Plantarum*, 36, 373-382. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00177-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00177-3)
- Gajewska, E., Drobik, D., Wielanek, M., Sekulska-Nalewajko, J., Gocławski, J., Mazur, J., & Skłodowska, M. (2013) Alleviation of nickel toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by selenium supplementation. *Biological Letters*, 50, 63-76. <https://doi.org/10.2478/biolet-2013-0008>
- Gall, J. E., Boyd, R. S., & Rajakaruna, N.

- (2015) Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 41, 1-21. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3>
- Gardea-Torresdey, J. L., Peralta-Videa, J. R., Montes, M., Rose, G. D., & Corral-Diaz, B. (2004) Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by (*Convolvulus arvensis* L.): Impact on plant growth and uptake of nutritional elements. *Bioresource Technology*, 92, 229-235. [https://doi:10.1016/j.biortech.2003.10.002](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.002)
- Gullan, P. J., & Cranston, P. S. Yea. (2014) *The Insects: an outline of entomology*, (5th ed.), Wiley UK.
- Hao, F., Wang, X., & Chen, J. (2006) Involvement of plasmamembrane NADPH oxidase in nickel-induced oxidative stress in roots of wheat seedlings. *Plant Science*, 170, 151-158. [https://doi:10.1016/j.plantsci.2005.08.014](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.08.014)
- Hasani, E., & Khangholi S. (2022) Effect of potassium nitrate and nitroprusside (nitric oxide) on seed germination of purple spike plant *Stachys inflata* Benth. The second national conference on medicinal plants and sustainable agriculture. *Conference Proceeding*, 1-6 [in Persian].
- Heckathorn, S. A., Mueller, J. K., LaGuidice, S., Zhu, B., Barrett, T., Blair, B., & Dong, A. (2004) Chloroplast small heat-shock proteins protect photosynthesis during heavy metal stress. *American Journal Botany*, 91, 1312-1318. [https://doi:10.3732/ajb.91.9.1312](https://doi.org/10.3732/ajb.91.9.1312)
- Kambhampati, M. S., Begonia, G. B., Begonia, M. F. T., & Bufford, Y. (2005) Morphological and physiological responses of Morning glory (*Ipomoea lacunose* L.) grown in a lead- and chelate-amended soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2, 299-303. [https://doi:10.3390/ijerph2005020014](https://doi.org/10.3390/ijerph2005020014)
- Khafi, A., Iranbakhsh, A., Safipour, A., & Khavarinejad, R. (2022) Evaluation of RBOH gene expression and physiological responses of *Citrullus colocynthis* under nickel stress conditions. *Journal of Plant Research*, 35, 467-481. [https://doi:10.1007/s12383-022-14013-5](https://doi.org/10.1007/s12383-022-14013-5)
- Khatib, M., Rashed Mohasel, M. H., Ganjeali, A., & Lahouti, M. (2008) The effects of different nickel concentrations on some morpho-physiological characteristics of parsley (*Petroselinum crispum*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 6, 295-302 [in Persian]. [https://doi:10.22067/gsc.v6i2.2436](https://doi.org/10.22067/gsc.v6i2.2436)
- Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology*, 148, 350-382. [https://doi:10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Manio, T., Stentiford, E. I., & Millner, P. A. (2003) The effect of heavy metals accumulation on the chlorophyll concentration of *Typha latifolia* plants, growing in substrate containing sewage sludge compost and watered with metaliferous water. *Ecological Engineering*, 20, 65-74. [https://doi:10.1016/S0925-8574\(03\)00004-1](https://doi.org/10.1016/S0925-8574(03)00004-1)
- Mansouri, S. M., Mehrparvar, M., Amiri-Domari, M., & Mozaffari, H. (2020) Evaluation of physiological indices of induced changes in safflower cultivars under biotic stress. *Journal of Plant*

- Research*, 32, 896–905 [in Persian].  
[https://doi:](https://doi.org/10.1001.1.23832592.1398.32.4.19.8)  
 20.1001.1.23832592.1398.32.4.19.8
- Mehrparvar, M., Mobli, M., & Hatami, B. (2008) Seasonal population fluctuations of the rose aphid, *Macrosiphum rosae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), on different cultivars of roses and nastaran. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 45, 711-719 [in Persian]. [https://doi:](https://doi.org/10.1001.1.22518517.1387.12.45.59.1)  
 20.1001.1.22518517.1387.12.45.59.1
- Mohammadhasani, F., Ahmadimoghadam, A., Asrar, Z., & Mohamadi, S. Z. (2020). Positive role of mycorrhizal fungi in the alleviation of zinc toxicity in badami cultivar of pistachio (*Pistacia vera* L.) trees. *Journal of Plant Research*, 33, 46-56 [in Persian]. [https://doi:](https://doi.org/10.1001.1.23832592.1399.33.1.17.7)  
 20.1001.1.23832592.1399.33.1.17.7
- Molas, J., & Baran, S. (2004) Relationship between the chemical form of nickel applied to the soil and its uptake and toxicity to barley plants (*Hordeum vulgare* L.). *Geoderma*, 122, 247-255. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.011)  
 10.1016/j.geoderma.2004.01.011
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. (2010) Heavy metals, occurrence and toxicity for plants, a review. *Environmental Chemistry Letters*, 26, 199-216. [https://doi:](https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8)  
 10.1007/s10311-010-0297-8
- Nyitrai, P., Bóka, K., Gáspár, L., Sárvári, E., Lenti, K., & Keresztes, A. (2003) Characterization of the stimulating effect of low-dose stressors in maize and bean seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 160, 1175-1183. [https://doi:](https://doi.org/10.1078/0176-1617-00770)  
 10.1078/0176-1617-00770
- Ouzoundi, G., Ciamprova, M., Moustakas, M., & Karataglis, S. (1995) Responses of maize (*Zea mays* L.) plants to copper stress. I. Growth, mineral content and ultra structure of roots. *Environmental and Experimental Botany*, 35, 167-176. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/0098-8472(94)00049-B)  
 10.1016/0098-8472(94)00049-B
- Papazoglou, E. G., Karantounias, G. A., Vemmos, S. N., & Bouranis, D. L. (2005) Photosynthesis and growth responses of giant reed (*Arundo donax* L.) to the heavy metals Cd and Ni. *Environment International*, 31, 243-249. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.09.022)  
 10.1016/j.envint.2004.09.022
- Parida, B. K., Chhibba, I. M., & Nayyar, V. K. (2003) Influence of nickel-contaminated soils on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. *Scientia Horticulturae*, 98, 113-119. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00208-X)  
 10.1016/S0304-4238(02)00208-X
- Poschenrieder, C., Roser, T., & Juan, B. (2006) Can metals defend plants against biotic stress? *Trends in Plant Science*, 22, 288-295. [https://doi:](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.04.007)  
 10.1016/j.tplants.2006.04.007
- Pourakbar, L., & Ebrahimzade, N. (2014). Growth and physiological responses of *Zea mays* L. to Cu and Ni stress. *Applied Field Crops Research*, 27, 147-159 [in Persian]. [https://doi:](https://doi.org/10.22092/AJ.2014.101216)  
 10.22092/AJ.2014.101216
- Pourmoghadas, H. & Zafarzadeh, A. (2017) Effect of Applying Chemical Fertilizers on Concentration of Cd, Pb and Zn in Agricultural Soils of Cd, Pb and Zn in Agricultural Soils. *Journal of Environmental Health Engineering*, 4(2), 127-138 [in Persian]. [https://doi:](https://doi.org/10.18869/acadpub.jehe.4.2.126)  
 10.18869/acadpub.jehe.4.2.126
- Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2003) Metal hyperaccumulation in plants: Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6,

- 110-146
- Prasad, S., Dwivedi, R., Zeeshan, M., & Singh, R. (2004) UV-B and cadmium induced changes in pigments, photosynthetic electron transport activity, antioxidant levels and antioxidative enzyme activities of *Riccia* sp. *Acta Physiologiae Plantarum*, 26, 423-430.
- Rabie, G. H. (2005) Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to red kidney and wheat plants tolerance grown in heavy metal-polluted soil. *African Journal of Biotechnology*, 4, 332-345.
- Ranjbar, M., Esmaili, S., & Moshtaghi, A. A. (2020) Lead and nickel effect on some physiological and biochemical characteristics of *Anethum graveolens* L. *Iranian Journal of Plant Biology*, 12, 1-22. <https://doi:10.22108/ijpb.2020.117860.1158>
- Rion, B., & Alloway, J. (2004) Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. *International Zinc Association*, 5, 1-128.
- Romero-Puertas, M. C., Rodriguez-Serrano, M., Corpas, F. J., Gomez, M. L., Riao, A. D., & Sandalio, L. M. (2004) Cadmium-induced subcellular accumulation of  $O_2^-$  and  $H_2O_2$  in pea leaves. *Plant, Cell and Environment*, 27, 1122-1134. <https://doi:10.1111/j.1365-3040.2004.01217.x>
- Saeidi Sar, S., Khavarinezhad, R. A., Fahimi, H., Ghorbanli, M. L., & Majd, A. (2006) Ascorbic acid protects soybean plants against ni- induced oxidative stress. *Pazhohesh-va-Sazandegi*, 19, 8-87 [in Persian].
- Seregin, I. V., & Kozhevnikova, A. D. (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Plant Physiology*, 53, 257-277. <https://doi:10.1134/S1021443706020178>
- Shaker-Kouhi, S., Nasrollahzadeh, S., Ghassemi-Golezani, K., & Najafi, N. (2021) Morpho-physiological changes of rotated barley and faba bean plants in response to nickel toxicity and chemical and biological fertilization. *Journal of Agricultural Sciences*, 31, 199-215 [in Persian]. <https://doi:10.22034/SAPS.2021.13158>
- Sharma, R. K., & Madhulika, A. (2005) Biological effects of heavy metals: An overview. *Environmental Biology*, 26, 301-313.
- Sharma, S. S., & Gaur, J. P. (1995) Potential of *Lemna polyrrhiza* for removal of heavy metals. *Ecological Engineering*, 4, 37-43. [https://doi:10.1016/0925-8574\(94\)00047-9](https://doi:10.1016/0925-8574(94)00047-9)
- Shimada, N., & Ando, T. (1980) Role of nickel in plant nutrition, Effect of nickel on the assimilation of urea by plants. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 51, 493-496. [https://doi:10.1016/S0304-4238\(99\)00107-7](https://doi:10.1016/S0304-4238(99)00107-7)
- Singh, V. P. (1995) Toxic metal cadmium. In R. K. Trivedy (Ed), *Phytotoxicity and Tolerance in Plants. Advances in Environmental Science and Tehnology* (pp. 225-256). Ashish Publication House, New Delhi.
- Srivastava, S., Mishra, S., Tripathi, R. D., Dwivedi, S., & Gupta, D. K. (2006) Copper induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. *Aquatic Toxicology*, 80, 405-415. <https://doi:10.1016/j.aquatox.2006.10.006>
- Tutic, A., Novakovic, S., Lutovac, M., Biocanin, R., Ketin, S., & Omerovic, N.

- (2015) The heavy metals in agrosystems and impact on health and quality of life. *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 48, 300-345. <https://doi:10.3889/oamjms.2015.048>
- Vallee, B. L., & Auld, D. S. (1990) Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry*, 29, 5647-5659. <https://doi.org/10.1021/bi00476a001>
- van Emden, H. F., & Harrington, R. (2009) Aphids As Crop Pests. *European Journal of Entomology* 106(1), 56-56. <https://doi:10.14411/eje.2009.008>
- Weis, J. S., & Weis, P. (2004) Metal uptake, transport and release by wetland plants, implications for phytoremediation and restoration. *Environment International*, 30, 685-700. <https://doi:10.1016/j.envint.2003.11.002>
- Xie, G., Zou, J., Zhao, L., Wu, M., Wang, S., Zhang, F., & Tang, B. (2014) Inhibitional effects of metal Zn<sup>2+</sup> on the reproduction of *Aphis medicaginis* and its predation by *Harmonia axyridis*. *Plos One*, 53, 58-69. <https://doi:10.1371/journal.pone.0087639>
- Zengin, F. K., & Munzuroglu, O. (2005) Effects of some heavy metales on chlorophyll, proline and some antioxidant and chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensla Series Botanica*, 47, 157-164.