نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد هشتم، شماره ۴(۳۲)، زمستان ۱۳۹۳، صفحه ۵۶۶-۵۵۳

اثر اسید آسکوربیک بر رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی ریحان تحت تنش آرسنیک

پرویز یدالهی[1*]، محمدرضا اصغری‌پور[2] و سجاد شیخ‌پور[3]

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر غلظت‌های متفاوت اسید آسکوربیک (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) بر رشد، وزن تازه و خشک اندام‌های مختلف گیاه ریحان تحت سطوح مختلف آرسنیک (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) در شرایط گلدانی انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا گردید. در گیاهان تیمار شده با آرسنیک، کلیه خصوصیات رشدی، وزن تازه و خشک اندام‌های هوایی و ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافتند. کاربرد اسید آسکوربیک به‌ویژه با غلظت ۲۰ میلی‌مولار در شرایط تنش آرسنیک، توانست با افزایش مقدار و فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه ریحان، منجر به کاهش اثرات منفی عنصر سنگین و افزایش سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه نسبت به گیاهان شاهد (غلظت صفر اسید آسکوربیک) شود. قابل ذکر است که کاربرد محلول پاشی اسید آسکوربیک تاثیر معنی‌داری در بهبود شرایط و افزایش صفات ارتفاع بوته، وزن تر و خشک ریشه و تعداد برگ در مقایسه با گیاهان شاهد نداشت ولی به‌طور کلی منجر به بهبود عملکرد، خصوصیات رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش تحمل این گیاه در برابر تنش عنصر سنگین آرسنیک گردید.

واژگان کلیدی: آرسنیک، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ریحان، محلول‌پاشی.

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران (* نگارنده‌ی مسئول) parviz.yd@gmail.com
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۳۰

مقدمه

در چند دهه اخیر آلودگی محیط زیست به انواع ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی به دلیل توسعه سریع صنایع شیمیایی و ورود انواع ترکیبات سمی و خطرناک به منابع طبیعی به یک تهدید جدی تبدیل شده است. آرسنیک شبه فلزی است که در همه جای پوسته زمین وجود دارد و به دو صورت معدنی و آلی یافت می‌شود که فرم معدنی آن سمی‌تر است (Maleki and Eslami, 2010) و مواجهه انسان‌ها با آرسنیک غیرآلی عمدتاً از طریق آب‌های آلوده به این عنصر می‌باشد (Boddu *et al*., 2008). به طور کلی، محصولات زراعی آرسنیک را در حد سمیت برای انسان انباشته نمی‌کنند اما از آن‌جایی که روش‌های فرآوری و مصرف گیاهان دارویی از گیاهان زراعی متفاوت است باید استانداردهای کنترل کیفیت گیاهان دارویی را به وسیله ارزیابی و تجدید نظر در مقدار مجاز فلزات سنگین در آنها با استفاده از انجام تحقیق بر پایه گیاهان دارویی بهبود بخشید (Cao *et al*., 2009). سطح مجـاز این عنصر در خاک ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و در گیاه ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و غلظت سمی آن ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم است (Tabatabaei, 2009). قرار گرفتن در معرض آرسنات باعث ایجاد تنش قابل توجهی در گیاهان شامل جلوگیری از رشد، ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی و در نهایت مرگ آنها می‌شود (Gunes *et al*., 2009). همچنین این عنصر سنگین در گیاهان با حمله به غشاهای سلولی سبب جلوگیری از انجام وظایف سلول‌ها می‌شود (Ozturk *et al*., 2010).

تنش عناصر سنگین به طور عمده از طریق کاهش سنتز کلروفیل اثر مستقیمی بر فتوسنتز دارد (Stoeva *et al*., 2005). کاهش رنگیزه‌ها به واسطهٔ افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه‌ی کلروفیل‌ها می‌گردد (Fangmier and Schutz, 2001). فعّالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌ها غالباً در مواجه‌ی گیاه با تنش‌های محیطی افزایش یافته و از این طریق گیاهان قادر هستند از خسارت رادیکال‌های آزاد اکسیژن بکاهند (Biswas *et al*., 2010).

آسکوربات اولین آنتی اکسیدان مهمی است که به‌طور مستقیم با پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و اکسیژن یکتایی واکنش می‌دهـد و نقش مهمی در حفاظت کلروپلاست سلول‌های گیاهی در برابر تنش اکسیداتیو دارد (Horemans *et al*., 2000). همچنین، این ماده به عنوان یک احیا کننده در باز تولید α–توکوفرول، چرخه‌ی گزانتوفیل شرکت داشته و حفاظت از آنزیم‌ها را نیز بر عهده دارد (Smirnoff and Wheeler, 2000). این اسید ساختارهای سلولی را در مقابل حمله‌ی اکسیدان‌ها به هنگام متابولیسم سریع در گیاهان حفظ می‌نماید و به عنوان آنتی اکسیدان سلولی، عامل پاسخ به تنش و کوفاکتور آنزیم، موضوع بسیاری از مقالات، طی سال‌های اخیر بوده است (Debolt *et al*., 2007). اسید آسکوربیک ترکیبی است که برتقسیم میتوز و رشد سلول‌ها در گیاهان تأثیر دارد (Noctor and Foyer, 1998; Smirnoff and Wheeler, 2000) و به عنوان سیگنال فیتوهورمونی در طی انتقال از فاز رویشی به زایشی دخالت دارد (Barth *et al*., 2006).

این مطالعه به منظور تاثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر خصوصیات رشدی، عملکرد و غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی ریحان تحت تنش فلز سنگین آرسنیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۹۱-۱۳۹۰ و در گلخانه دانشگاه زابل اجراشد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها قبل از اجرای آزمایش در جدول ۱ ارایه شده است. بذور ریحان از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل تهیه و آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار به صورت گلدانی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح آرسنیک به مقدار: صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و سه سطح محلول‌پاشی اسید آسکوربیک (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) بودند. غلظت‌های ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک در مطالعات قبلی برای ریحان سمی گزارش شـده بـود (Biswas *et al.*, 2010). همچنین، محلول‌پاشی با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک در گیاه مرزنجوش از گیاهان در برابر تنش شوری محافظت کرده بود (Selahvarzi *et al.*, 2011).

عناصر غذایی مورد نیاز گیاه بر اساس نتایج آزمون خاک، قبل از کشت به گلدان‌ها اضافه گردید تا شرایط مناسب برای رشد گیاه فراهم گردد. در این آزمایش مقـادیر آرسنیک (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر اساس مقدار خاک هر گلدان و بر اساس تیمارهای مورد آزمایش محاسبه و قبل از کاشت با خاک مخلوط شده و بعد از دو هفته نگهداری خاک در نایلون‌های مخصوص به‌منظور آغشته شدن خاک با آرسنیک با حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی، گلدان‌ها با این خاک پر و سپس کاشت در یک فروردین انجام گرفت. بذرها در عمق ۲ سانتی‌متری سطح خاک قرار داده شده و درون هر گلدان ۶ عدد بوته نگهداری شد. تیمار اسید آسکوربیک بعد از کاشت ۷ تا ۱۰ برگی ریحان (حدود ۳۵ روز بعد از جوانه‌زنی) بر روی برگ‌های این گیاه اعمال شد. گیاهان کاشته شده در درون گلدان‌ها هر چهار روز آبیاری می‌شدند. ریحان زمانی آماده برداشت شد که گیاه در مرحله رویشی (نزدیک به مرحله گلدهی) حدود ۶۰ روز پس از کاشت بود.

صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سنجنده سطح برگ (Green Leaf Area Meter, GA-5 ساخت ژاپن)، وزن تر و خشک اندام هوایی و زیرزمینی (با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱)، محتوای کلروفیل a، b و کل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. جهت محاسبه میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ و ۶۴۲/۵ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Unico UV- 2100 ساخت آمریکا) قرائت شد (Tabatabaei, 2009).

تجزیه داده‌های حاصل با استفاده نرم‌افزار آماری MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

آرسنیک تاثیر معنی‌داری ($p<0/01$) بر ارتفاع گیاه داشت (جدول ۲). افزایش میزان آرسنیک باعث کاهش صفت مذکور شد. به‌طوری که سطح چهارم این فلز سنگین (۱۲۰mg/kg) باعث کاهش ۱۶/۹۸ درصدی این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). مهار فتوسنتزی، مهار تولید ATP، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب مولکول‌های DNA از عوارض تشکیل ROS محسوب می‌شوند که این وقایع می‌توانند به مرگ سلول‌ها نیز منتهی شوند. در سطح کل گیاه نیز توقف رشد طولی ریشه و ساقه و کاهش ماده‌سازی از علایم معمول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Ruley *et al.*, 2004).

در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر آرسنیک بر تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) انجام شد، افزایش غلظت این عنصر باعث کاهش رشد گیاه شد. در این مطالعه بیشترین تعداد برگ، طول ساقه و قطر ساقه در تیمار شاهد و کمترین آنها در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آرسنیک مشاهده شد (Choudhury*et al*., 2008).

وزن تر اندام هوایی و ریشه

تاثیر آرسنیک بر وزن تر اندام هوایی ($p<۰/۰۱$) و ریشه ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که کاربرد ۱۲۰ mg/kg آرسنیک، به‌ترتیب باعث کاهش ۶۲/۹۶ و ۲۱/۸۰ درصدی وزن تر اندام هوایی (با میانگین ۵۰/ ۰گرم) و ریشه (با میانگین ۰/۱۶۵گرم) نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که عکس العمل رشدی گیاهان به غلظت‌های مختلف آرسنیک متفاوت است به عنوان مثال در تحقیقی که روی لوبیا انجام شد کاهش وزن اندام‌های هوایی از غلظت ۲/۵ میکرومولار آرسنیک آغاز شد (Lakzaian *et al*., 2008). محققین دیگری کاهش رشد لوبیا را در غلظت ۶۷ میکرومولار آرسنیک گزارش کردند (Stoeva *et al*., 2005). همچنین در آزمایشی که روی گیاه دارویی *Scutellaria baicalensis* از خانواده نعناعیان انجام شد، مشخص گردید غلظت‌های کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک سبب تسریع در رشد و توسعه ریشه‌ها گردید. مجموع بیوماس گیاه در غلظت‌های پایین آرسنیک افزایش، اما در غلظت‌های بالای۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک کاهش یافت (Cao *et al*., 2009).

وزن تر ریشه تحت تاثیر اسید آسکوربیک قرار نگرفت، اما وزن تر اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش اسید آسکوربیک به میـزان ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار، وزن تر اندام هوایی به‌ترتیب افزایش ۷/۱۴ و ۲۵/۷۱ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳).

در تحقیقی که توسط قربانلی و همکاران (Ghorbanli *et al*., 2010) انجام شد نیز مشخص شد کاربرد اسید آسکوربیک سبب کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه کلزا می‌شود.

وزن خشک اندام هوایی

تاثیر آرسنیک بر وزن خشک اندام هوایی ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که کاربرد ۱۲۰ mg/kg آرسنیک به ترتیب باعث کاهش ۴۴/۸ و ۴۶/۲ درصدی وزن خشک اندام هوایی (با میانگین ۰/۰۴۸ گرم) و ریشه گردید (جدول ۳).

کاهش رشد در اثر سمیت آرسنیک می‌تواند به علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن در واکنش‌های نوری فتوسنتز باشد (Gunes *et al*., 2009; Maksymiec, 2007). مهار پمپ پروتون و کاهش جذب مواد غذایی نیز از دیگر علت‌های احتمالی کاهش رشد توسط فلزات سنگین است (Chen *et al*., 2007). یکی از آسیب‌های جدی ناشی از حضور فلزات سنگین در محیط خسارت به غشا و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است که به پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذپذیری غشا و خسارت به سلول منجر می‌شود (Cui *et al*., 2010). در مطالعه‌ای با افزایش غلظت آرسنیک، وزن خشک اندام هوایی گیاه تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) کاهش یافت، (Choudhury *et al*., 2008) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

وزن خشک ریشه نیز همانند وزن تر آن تحت تاثیر اسید آسکوربیک قرار نگرفت، اما وزن خشک

اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

محلول‌پاشی اسید آسکوربیک باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی شد، به‌طوری که بیشترین میزان آن (۰/۰۸۲ گرم) از کاربرد بالاترین سطح اسید آسکوربیک (۲۰ میلی‌مولار) به دست آمد (جدول ۳). در سایر مطالعات نیز گزارش شده است اسید آسکوربیک از طریق حفظ ساختار و تمامیت غشاهای زیستی و کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث بهبود وضعیت گیاهان در معرض تنش فلزات سنگین و کاهش خسارت ناشی از سمیت آرسنیک بر رشد گیاه می‌شود (Barth *et al.*, 2006; Amin *et al.*, 2008). دولت آبادیان و همکاران (Dolatabadian *et al.*, 2009) در آزمایشی که روی ذرت انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که اسید آسکوربیک موجب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ساقه می‌شود.

برهمکنش آرسنیک و اسید آسکوربیک بر میزان وزن خشک ریشه معنی‌دار شد ($p<0/01$)، بیشترین وزن خشک ریشه (با میانگین ۰/۰۷۵ گرم) از ترکیب تیماری شاهد آرسنیک و ۱۰mmol اسید آسکوربیک به دست آمد، ولی کمترین آن در بیشترین سطح آرسنیک (۱۲۰میلی‌گرم در کیلوگرم) و سطح دوم محلول پاشی (۱۰ میلی‌مولار) با ۶۸/۵۳ درصد اختلاف نسبت به بیشترین میزان وزن خشک ریشه ملاحظه گردید (شکل ۱).

طول ریشه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر آرسنیک در سطح یک درصد بر طول ریشه معنی‌دار گردیده است (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش صفت مذکور کاهش معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری که با افزایش آرسنیک به میزان ۸۰mg/kg، طول ریشه گیاه (با میانگین ۷/۷۴ سانتی‌متر) ۸/۹۴ درصد نسبت به خاک عاری از آرسنیک، کاهش یافت، اما بیشترین کاهش (۹/۸۸ درصد نسبت به شاهد) در میزان این صفت از کاربرد ۱۲۰ mg/kg آرسنیک به‌دست آمد (جدول ۳). طبق نتایج دلاروسا و همکاران (Delarosa *et al.*, 2006) سطوح مختلف آرسنیک به‌طور معنی‌داری طویل شدن ریشه و شاخساره‌ی گیاه دارویی علف شور (*Salsola kali*) را کاهش داد. در این آزمایش طویل شدن ریشه گیاه در معرض ۲ میلی‌گرم در لیتر آرسنیک در حدود ۵۰ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش داشت.

سطح برگ

تاثیر آرسنیک، اسید آسکوربیک و برهمکنش آنها بر سطح برگ ($p<0/01$) معنی‌دار شد (جدول ۴). در اثر متقابل آرسنیک و اسید آسکوربات، استفاده از اسید آسکوربات اثر معنی‌داری بر میزان سطح برگ در شرایط تنش داشت به‌طوری که در سطح ۴ آرسنیک (۱۲۰mg/kg)، با افزایش اسید آسکوربات در سطح ۲۰ میلی‌مولار میزان سطح برگ به‌ترتیب ۱۴/۸۵ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد (شکل ۲).

کاهش سطح برگ می‌تواند به دلیل تاثیر کاهنده آرسنیک بر خصوصیات رشدی گیاه باشد، زیرا آرسنیک موجب کندی و تاخیر رشد و کاهش سطح برگ‌ها شده که این پدیده موجب کاهش سطح تعرق می‌گردد. بنابراین، جریان ترکیباتی که باید به سمت ساقه‌ها و اندام‌های هوایی انتقال یابند با کاهش مواجه می‌شوند و همین امر نیز موجب کندی رشد در بخش‌های هوایی می‌شود (Pisani *et al.*, 2010).

بر اساس گزارش‌های موجود، نوعی سیستم آنتی‌اکسیدان که سبب تولید مجدد اسید آسکوربیک می‌شود، در حفاظت گیاهان در مقابل تنش‌های اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین نقش دارد (Fechtchristoffers *et al.*, 2003). سعیدی‌سار و

همکاران (Saidisar *et al*., 2005) نیز گزارش کردند استفاده از اسید آسکوربیک به طور قطع تا حد زیادی موجب حفاظت گیاه سویا در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از نیکل می‌شود.

تعداد برگ

در مطالعه حاضر تعداد برگ از میان تیمارهای موجود فقط تحت تاثیر آرسنیک ($p<۰/۰۵$) قرار گرفت (جدول ۴). به طوری که، کمترین میانگین این صفت (۸ عدد) از کاربرد ۱۲۰mg/kg آرسنیک به دست آمد (جدول ۵). محققین در مطالعه‌ای روی گیاه تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) دریافتند، بیشترین تعداد برگ در تیمار شاهد و کمترین در ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آرسنیک به‌دست آمد (Choudhury *et al*., 2008) که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

کلروفیل a، b و کل

اثر ساده تنش آرسنیک بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بیشترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل به ترتیب با میانگین‌های ۰/۱۰۱ و ۰/۱۲۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر از تیمار شاهد و کمترین میزان صفات مذکور از سطح سوم آرسنیک (۱۲۰ mg/kg) به‌ترتیب با کاهش ۳۷/۶ و ۳۴/۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد، به دست آمد (جدول ۵). قرار گرفتن در معرض آرسنات باعث ایجاد تنش قابل توجهی در گیاهان شامل جلوگیری از رشد، ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی و در نهایت مرگ آنها می‌شود (Gunes *et al*., 2009).

در بررسی که روی گیاه گلسنگ (*Lichen Xanthori Parietina*) انجام شد، کارایی فتوسنتزی فقط در بالاترین غلظت آرسنیک (ppm ۱۰) کاهش معنی‌داری یافت (Pisani *et al*., 2010).

محلول‌پاشی اسید آسکوربیک موجب افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a ($p<۰/۰۵$) و کل ($p<۰/۰۱$) گـردید (جـدول ۴). سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک به‌ترتیب موجب افزایش ۱۲/۹۸ و ۲۳/۳۷ درصدی کلروفیل a نسبت به شاهد گردیدند. در سطح ۲۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک افزایش ۲۵/۵۱ درصدی در مقدار کلروفیل کل مشاهده شد (جدول ۵). این ماده به سه طریق در واکنش‌های بیوشیمیایی در گیاهان ایفای نقش می‌کند. اول این‌که به عنوان یک آنتی اکسیدان به طور مستقیم در از بین بردن پراکسیدهیدروژن تولید شده به‌وسیله‌ی احیای نوری اکسیژن در فتوسیستم I عمل می‌کند. دوم، مونو دهیدرو-آسکوربات تولید شده به‌وسیله آسکوربات پراکسیداز به‌طور مستقیم پذیرنده الکترون در فتوسیستم I است. سوم این‌که اسید آسکوربیک کوفاکتوری برای چرخه ویولازانتی می‌باشد که این چرخه گیاهان را در برابر آسیب‌های فتواکسیداتیو حفاظت می‌کند (Smirnoff and Wheeler, 2000).

در مطالعه‌ای مشخص شد اسید آسکوربیک نقش مؤثری در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در گندم دارد (Amin *et al*., 2008). با توجه به معنی‌دار شدن برهمکنش آرسنیک و اسید آسکوربیک بر میانگین کلروفیل b ($p<۰/۰۱$) (جدول ۴)، بیشترین میزان کلروفیل b (با میانگین ۰/۰۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) از ترکیب تیماری ۴۰ mg/kg آرسنیک و ۲۰mmol اسید آسکوربیک به‌دست آمد، ولی کمترین آن در بیشترین سطح آرسنیک (۱۲۰میلی‌گرم در کیلوگرم) و سطح دوم محلول‌پاشی (۱۰ میلی‌مولار) با ۶۸/۶ درصد اختلاف نسبت به بیشترین میزان کلروفیل b ملاحظه گردید (شکل ۳).

سلاح‌ورزی و همکاران (Selahvarzi *et al*., 2011) با تحقیق روی گیاه مرزنجوش نشان دادند که مقادیر کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها و نهایتاً کلروفیل

کل در این گیاه با کاربرد اسید آسکوربیک افزایش می‌یابد. این نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی توانسته است از فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از تنش و به دنبال آن تخریب غشای کلروپلاستی جلوگیری نموده و محتوای کلروفیل گیاه را حفظ نماید. همچنین دولت آبادیان و همکاران (Dolatabadian *et al.*, 2009) گزارش کردند که تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل در ذرت می‌شود و اسید آسکوربیک به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و به طور غیرمستقیم موجب افزایش آن می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

بررسی نتایج حاصل از آزمایش نشان می‌دهد که ریحان تا حدی حساس به آرسنیک بوده، به گونه‌ای که اکثر صفات مورد بررسی در آزمایش تحت تاثیر دومین سطح آرسنیک قرار گرفتند. کاربرد اسید آسکوربیک منجر به بهبود پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک و افزایش مقاومت این گیاه در برابر تنش عنصر سنگین آرسنیک گردید. همچنین، محلول‌پاشی در شرایط بدون تنش نیز تاثیر مثبت بر اکثر پارامترهای ذکر شده داشت. این اسید با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و رشد اندام‌های گیاه گردیده است. از بررسی کلیه صفات می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که در بین غلظت‌های اسید آسکوربیک به کار رفته، غلظت ۲۰ میلی‌مولار، بیشترین تاثیر مثبت را در کاهش اثرات ناشی از تنش آرسنیک بر این گیاه دارویی دارد، به‌طورکلی در خاک‌هایی که در معرض سمیت عناصر سنگینی نظیر آرسنیک قرار دارند، می‌توان با استفاده از مواد آنتی اکسیدان زمینه کشت گیاهانی نظیر ریحان را فراهم نمود.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Physico-chemical properties of soil

Soil texture	Sand	Clay	Silt	Mn	Zn	Fe	K	P	N	pH	Ec (ds/m)
	(%)			ppm							
Sandy-loam	41	32	27	3.1	4.8	2.2	185	12	6.3	7.1	1.8

جدول ۲- تجزیه واریانس ویژگی‌های وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، ارتفاع و طول ریشه ریحان در شرایط تنش آرسنیک و محلول پاشی اسید آسکوربیک

Table 2-Analysis of varianc for fresh and dry weight of root and aerial parts, root length and plant height in basil influenced by arsenic toxicity and ascorbic acid spraying

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	ارتفاع height	وزن تر ساقه shoot wet weight	وزن تر ریشه Root wet weight	وزن خشک ساقه shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	طول ریشه Root length
تکرار Replication	2	3.36^{*}	0.24^{*}	0.02^{**}	0.00011	0.0005^{**}	0.35^{ns}
آرسنیک Arsenic (A)	3	6.30^{**}	1.49^{**}	0.007^{*}	0.002*	0.001^{**}	1.27^{**}
اسید آسکوربیک ascorbic acid (B)	2	0.25^{ns}	0.24^{*}	0.003^{ns}	0.001^{**}	0.00003^{ns}	0.103^{ns}
اثر متقابل Interaction (A×B)	6	0.42^{ns}	0.04^{ns}	0.003^{ns}	0.00009^{ns}	0.0001^{**}	0.36^{ns}
خطا Error	22	0.58	0.04	0.001	0.0001	0.00004	0.17
ضریب تغییرات CV%		8.20	24.39	22.86	17.29	19.35	5.30

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد

ns, (*) and (**) non significant and significant at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، ارتفاع و طول ریشه ریحان در شرایط تنش آرسنیک و محلول پاشی اسید آسکوربیک

Table 3- Fresh and dry weight of root and aerial parts, root length and plant height in basil influenced by arsenic toxicity and ascorbic acid spraying

تیمار Treatments	ارتفاع height (cm)	وزن تر ساقه shoot wet weight(g)	وزن تر ریشه Root wet weight(g)	وزن خشک ساقه shoot dry weight(g)	طول ریشه Length root(cm)
Arsenic (mg/kg of soil)			**آرسنیک** (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)		
0	10.60a	1.35a	0.211a	0.087a	8.50a
40	9.06b	1.11b	0.173ab	0.076ab	7.93b
80	8.95b	0.60c	0.144b	0.070b	7.74b
120	8.80b	0.50c	0.165b	0.048c	7.66b
ASA (mmol)			**اسید آسکوربیک** (میلی مولار)		
0	a9.46	0.78b	0.19a	0.058c	7.92a
10	a9.45	0.84b	0.16a	0.070b	7.89a
20	a9.50	1.05a	0.16a	0.082a	8.06a

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک در هر ستون هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

Mean followed by the same letter in each column do not differ significantly at 5% probability level according to DMRT.

جدول ۴- تجزیه واریانس ویژگی های کلروفیل a، b و کل، تعداد برگ و سطح برگ ریحان در شرایط تنش آرسنیک و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک

Table 4-Analysis of variance for chlorophyll a, b and total chlorophyll, numbers of leaf and leaf area in basil influenced by arsenic toxicity and ascorbic acid spraying

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Leaf number	کلروفیل a chlorophyll a	کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll
تکرار Replication	2	**17.69	0.19ns	0.0005 ^{ns}	0.0000003^{ns}	0.0006 ^{ns}
آرسنیک Arsenic (A)	3	105.03**	2.17*	0.002**	0.00009**	0.003**
اسید آسکوربیک ascorbic acid (B)	2	93.69**	0.69 ^{ns}	0.001*	0.00016**	0.001**
اثر متقابل Interaction (A×B)	6	23.50**	0.62 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.00019**	0.0006 ^{ns}
خطا Error	22	2.66	0.49	0.0003	0.000007	0.0002
ضریب تغییرات Cv%	-	7.81	8.32	20.56	11.69	15.61

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

ns, (*) and (**) non significant and significant at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

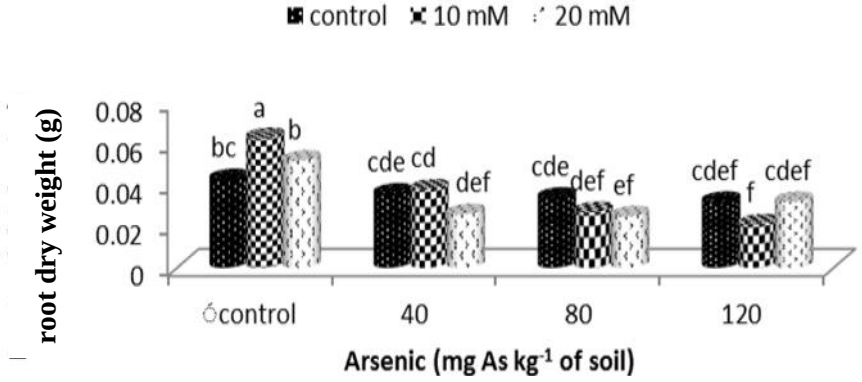
جدول ۵- مقایسه میانگین ویژگی‌های کلروفیل a، b و کل، تعداد برگ و سطح برگ ریحان در شرایط تنش آرسنیک و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک

Table 5- Chlorophyll a, b and total chlorophyll, numbers of leaf and leaf area influenced by arsenic toxicity and ascorbic acid spraying

تیمار Treatments	**سطح برگ** Leaf area (cm^2)	**تعداد برگ** Leaf number	**کلروفیل a** chlorophyll a (mg g^{-1} /fw)	**کلروفیل کل** Total chlorophyll (mg g^{-1} /fw)
Arsenic (mg/kg of soil)	**آرسنیک** (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)			
0	25.44a	9a	0.101a	0.126a
40	21.44b	8.77ab	0.098ab	0.124a
80	19c	8.11bc	0.083b	0.104b
120	17.66c	8c	0.063c	0.082c
ASA (mmol)	**اسید آسکوربیک** (میلی‌مولار)			
0	18.16c	8.33a	0.077b	0.098b
10	20.75b	8.33a	0.087ab	0.106b
20	23.75a	8.75a	0.095a	0.123a

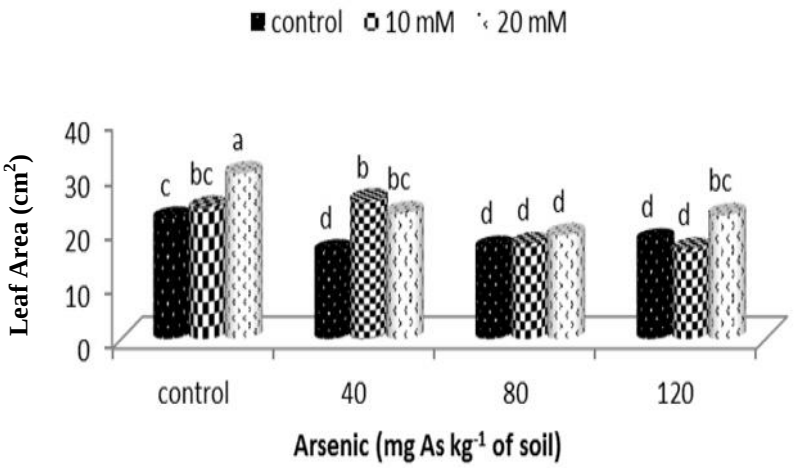
میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک در هر ستون هستند در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

Mean followed by the same letter in each column are not significantly different at p <5% according to DMRT



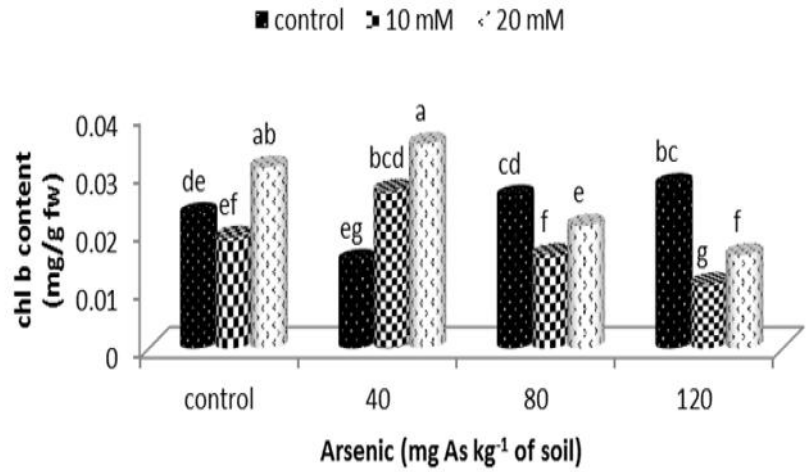
شکل ۱- ترکیب تیماری آرسنیک و اسید آسکوربیک بر وزن خشک ریشه

Figure 1- Treatment combination of arsenic and ascorbic acid on root dry weight



شکل ۲- ترکیب تیماری آرسنیک و اسید آسکوربیک بر سطح برگ

Figure 2- Treatment combination of arsenic and ascorbic acid on Leaf Area



شکل ۳- ترکیب تیماری آرسنیک و اسید آسکوربیک بر محتوای کلروفیل b برگ

Figure 3- Treatment combination of arsenic and ascorbic acid on chlorophyll b content of leaves

References منابع مورد استفاده

- Amin, A.A., E.M. Rashad, and A.E. Gharib, 2008. Changes in morphological, physiological and reproductive characters of wheat plants as affected by foliar application with salicylic acid and ascorbic acid. *Aust. J. of Basic and Appli. Sci.* 2: 252-261.
- Barth, C., M.D. Tuillo, and P.L. Conklin. 2006. The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. *J. Exp. Bot.* 57: 1657-1665.
- Biswas, Sh., M. Koul, and A. K. Bhatnagar. 2010. Arsenic in soil affects yield and quality of essential oil in basil (*Ocimum basilicum* L.). International Conference on Challenging and Emerging Dimension in Medicinal/Herbal Plants and their Products. 21-22 April. New Delhi, India.
- Boddu, V.M., K. Abburi, J.L. Talbott, E. D. Smith, and R. Haasch. 2008. Removal of arsenic (III) and arsenic (V) from aqueous medium using chitosan-coated biosorbent. *Water Research.* 42: 633-642.
- Cao, H., Y. Jiang, C. Jianjiang, H. Zhang, W. Huang, L. Li, and W. Zhang. 2009. Arsenic accumulation in *Scutellaria baicalensis* Georgi and its effects on plant growth and pharmaceutical components. *Journal Hazardous Materials* 171: 508-513.
- Chen, B.D., P. Christie, Y.G. Zhu, F.A. Smith, Z.M. Xie, and S.E. Smith. 2007. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* gives contradictory effects on phosphorous and arsenic acquisition by *Medicago sativa*. *Science Total Environment* 379: 226-234.
- Choudhury, M.R.Q., S.T. Islam, R. Alam, I. Ahmad, W. Zamam, R. Sen, and M.N. Alam. 2008. Effects of arsenic on red amaranth *(Amaranthus retroflexus* L.*). American-Eurasian Journal of Scientific Research.* 3: 48-53.
- Cui, X.M., Y.K. Zhang, X.B. Wu, and C.S. Liu. 2010. The investigation of the alleviated effect of copper toxicity by exogenous nitric oxide in tomato plants. *Plant, Soil and Environment.* 56 (6): 274-281.
- De larosa, G., J. Parsons, A. Martinez, J. Peralta, L. Jorge, and V. Torresdey. 2006. Spectroscopic study of the impact of arsenic speciation on arsenic/phosphorus uptake and plant growth in tumbleweed (*Salsola kali*). *Environmental Science and Technology* 40: 1991-1996.
- Debolt, S., V. Melino, and C.M. Ford. 2007. Ascorbate as a biosynthetic precursor in plants. *Annals of Botany.* 99: 3-8.
- Dolatabadian, A., A. Modarres Sanavi, and M. Sharifi. 2009. Effect of leaf feeding by ascorbicacid onantioxidantenzyme activity, lipid peroxidation and proline accumulation of canola. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources.* 13: 611-620. (In Persian).
- Fecht Christoffers, M.M., P. Maier, and W.J. Horst. 2003. Apoplastic peroxidase and ascorbate are involved in manganese toxicity and tolerance of *Vignaum guiculata*. *J. of Plant Physiol.* 117: 237-244.

- Ghorbanli, M., M. Farzami Sepehr, and F. Norouzi. 2010. Effect of drought and ascorbic acid on two varieties of canola. *Crop Physiology.* 3: 73-91. (In Persian).
- Gunes, A., D.J. Pilbeam, and A. Inal. 2009. Effect of arsenic-phosphorus interaction on arsenic-induced oxidative stress in chickpea plants. *Plant and Soil.* 31(1): 211-220.
- Horemans, N., C. H. Foyer, G. potters, and H. Asard. 2000. Ascorbate function and associated transportsystem in plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* 38: 531-540.
- Lakzian, A., A. Halajnia, M. Nasiri Mahallati, and F. Nikbin. 2008. Effect of rhizobium bacteria of *Leguminosarum phaseoli* on the uptake and increased tolerance to arsenic in bean. *Journal of Soil and Irrigation Sciences* 23: 36-44. (In Persian)
- Maksymiec, W. 2007. Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiologia Plantarum.* 29: 177-187.
- Maleki, A. and A. Eslami. 2010. Kinetics of adsorption isotherm pentavalent arsenic from aqueous solution by wheat straw. *Journal of Environmental Health Science.* 3(4): 439-450. (In Persian).
- Noctor, G. and C.H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione, keeping active oxygen under control. *Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.
- Ozturk, F., F. Duman, Z. Leblebici, and R. Temizgul. 2010. Arsenic accumulation and biological responses of Watercress (*Nasturtium officinale* Br.) exposed to arsenite. *Environmental Experience Botany*. 69:167-174.
- Pisani, T., S. Munzi, A. Paoli, M. Bockor, and S. Loppi. 2010. Physiological effects of arsenic in the Lichen (*Parietina xanthoria* L.). *Chemosphere.* 40: 440-454.
- Ruley, A.T., N.C. Sharma, and S.V. Shahi. 2004. Antioxidant defense in a lead accumulation plant, *Sensbaniadrum mondii*. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 899-906.
- Saedi Sar, S., R. Khavarinezhad, R. Fahimi, J. Ghorbanly and A. Majd. 2005. Effect of ascorbic acid and gibberellin on nickel toxicity reduction in soybean. *Botany.* 6: 67-75. (In Persian).
- Schutz, H., and E. Fangmier. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to elevated CO_2 and water limitation. *Environmental Pollution.* 114: 187-194.
- Selahvarzi, Y., M. Goldani, J. Nabati, and M. Alirezaei. 2011. Effects of exogenous application of ascorbic acid on some physic-chemistry response of marjoram under salt stress. *Iranian Journal of Horticultural Science.* 42: 159-167. (In Persian).
- Smirnoff, N., and G.L. Wheeler. 2000. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Rev. Plant Sci.* 19: 267-290.
- Stoeva, N., M. Berova, and Z. Zlatev. 2005. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. *Biologia Plantarum.* 49: 293-296.
- Tabatabaei, S.J. 2009. Mineral nutrition of plants. Author Publications, 388 pages. (In Persian).

Effects of Ascorbic Acid on Growth and Photosynthetic Pigments of Basil under Arsenic Toxicity

Yadollahi, P.[1 *], M.R. Asgharipour[2], and S. Sheikhpour[3]

Received: January 2014, Accepted: 21 September 2014

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of different concentrations of ascorbic acid (0, 10 and 20 mM) on growth, fresh and dry weight of basil under different levels of arsenic (0, 40, 80 and 120 $mg.kg^{-1}$ of soil) in pots. The experiment was factorial based on a randomized complete block design with three replications. It was carried out in greenhouse at the Faculty of Agriculture, University of Zabol. All growth characteristics, fresh and dry weight of shoots and roots and photosynthetic pigments of plants treated with arsenic decreased. Application of ascorbic acid, especially at concentration of 20 mM, could increase the amount and activity of photosynthetic pigments in basil which resulted, in reducing the negative effects of arsenic and an increase on leaf area, fresh and dry weight of shoot as compared with those of control (non-application of ascorbic acid). Foliar application of ascorbic acid did not have significant effect on plant height, fresh and dry weight of roots and leaves as compared with those of the control.

Key words: Arsenic, Basil, Photosynthetic pigments, Spraying.

1- Graduated MSc Student, Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Associate Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
3- Graduated MSc Student, Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
**** Corresponding Author:*** *parviz.yd@gmail.com*