نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد دهم، شماره ۱(۳۷)، بهار ۱۳۹۵، صفحه ۲۴۲-۲۲۵

کاهش تنش ناشی از سمیت آرسنیک در سویا (*Glycine max* L.) با استفاده از سدیم نیتروپروساید

الهام اسدی کرم[1*]، بتول کرامت[1] و حسین مظفری[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۱ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۴/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۷

چکیده

آرسنیک یکی از مهم‌ترین سموم آلوده‌کننده‌ی محیط زیست محسوب می‌شود. آرسنیک به طرق مختلف از جمله تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی باعث اختلال در رشد گیاهان می‌شود. در این مطالعه اثر متقابل آرسنیک و سدیم نیترو پروساید (SNP) بر گیاه سویا بررسی شد. بدین منظور، سویا در مرحله چهار برگی مورد تیمار غلظت‌های مختلف آرسنیک (۰، ۱۵۰ و۳۰۰ میکرومولار) و SNP (صفر و ۱۰۰میکرومولار) قرار گرفت و صفاتی نظیر غلظت پراکسید هیدروژن، پرولین، مالون دی‌آلدهید و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شاخساره اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک در محیط هوگلند، میزان کلروفیل کل در شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، در تیمارهای آرسنیک تجمع پراکسیدهیدروژن به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی گردید. افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدهید، این را تأیید نمود. به کارگیری SNP در محیط حاوی آرسنیک، میزان کلروفیل کل، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی، فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از SNP در این شرایط کاهش پیدا کرد. بنابراین، SNP در کاهش آسیب‌های اکسایشی می‌تواند نقش مؤثری داشته باشد.

واژگان کلیدی: آرسنیک، آنتی‌اکسیدان، سویا، سدیم نیترو پروساید.

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران (* نگارنده‌ی مسئول) Asadikaram_e2007@yahoo.com
۲- پژوهشکده علوم محیطی، مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان، ایران

مقدمه

آرسنیک یک شبه فلز سمی و غیرضروری برای گیاهان است که از طریق منابع طبیعی (فعالیت‌های زمین‌شناسی، آتشفشان‌ها) و منابع مصنوعی (استفاده از حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، و غیره) محیط زیست را آلوده می‌کند (Gunes *et al*., 2009). انسان از طریق فعالیت‌های معدن‌کاری در مناطق آلوده و مصرف آب آشامیدنی و مواد غذایی آلوده به آرسنیک در معرض این سم خطرناک قرار می‌گیرد (Zhao *et al*., 2009). آرسنیک یکی از سموم مهم محیطی است که توانایی تجمع در گیاهان و جانوران را داشته و به وسیله‌ی زنجیره‌ی غذایی به انسان منتقل می‌شود (Roy and Saha, 2002). این عنصر سمی در صورتی‌که از طریق خاک به بخش‌هایی از گیاه که مورد استفاده انسان و دام است در غلظت بیش از ۱۰ میکروگرم بر گرم منتقل شود، باعث ایجاد سمیت می‌گردد. اگرچه آلودگی آرسنیک بیشتر متعلق به کشورهای جنوب شرقی آسیا می‌باشد ولی در مناطقی از ایران (استان‌های کردستان و خراسان) نیز آلودگی خاک و آب به این آلاینده گزارش شده است (Karimi *et al*., 2010). آرسنات به عنوان مشابه فسفات به وسیله سیستم انتقال دهنده فسفات در گیاه، جذب می‌شود (Meharg and Macnair, 1992). مطالعات مختلف نشان داده است که حضور فسفات در مراحل رشد گیاه، اثرات زیادی بر جذب و تجمع آرسنیک دارد (Tu and Ma, 2003). فلزات سنگین یا به‌طور مستقیم از طریق واکنش Haber-Weiss و یا به‌طور غیرمستقیم باعث تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Mithofer *et al*., 2004). شواهد نشان می‌دهند که فعالیت انواع (ROS)، سبب بروز خسارات زیادی از جمله پراکسیداسیون لیپیدها، اکسید شدن پروتئین‌ها، بی‌رنگ شدن کلروپلاست‌ها و رنگدانه‌ها می‌گردند (Herbinger *et al*., 2002). آرسنیک با افزایش تحریک واکنش‌های تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تولید رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه در غشای کلروپلاست‌ها منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو می‌گردد (Morel, 2008). آرسنیک می‌تواند در غلظت‌های بالا با گروه‌های تیولی پروتئین‌ها واکنش داده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها (Jain and Gadre, 2004) و القای تنش اکسیداتیو شود (Singh *et al*., 2007). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در نتیجه بالا رفتن سطوح مالون‌دی‌آلدهید، می‌توانند باعث کاهش زیست توده گیاه و در نهایت مرگ سلول شوند (Gunes *et al*., 2009). سدیم نیترو پروساید یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است که در حالت محلول به‌شدت به نور حساس بوده و تجزیه آن توسط اکسیژن و دمای زیاد تسریع می‌شود (Wieczorek *et al*., 2006). بررسی‌های اخیر نشان داد که این ماده می‌تواند در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک و نمو مثل جوانه‌زنی بذر، بسته شدن روزنه، پاسخ به عوامل بیماری‌زا و نمو ریشه دخالت نماید (Duan *et al*., 2007; Neill *et al*., 2003). از طرفی NO می‌تواند به عنوان واسطه در عمل تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن شرکت کند و در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که در انتقال پیام و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز دخالت دارد (Del Rio *et al*., 2004). مقدار زیاد NO می‌تواند با O_2 ترکیب شده، رادیکال پراکسید نیتریت ($ONOO^-$) را تولید کند و گزارش شده است که این رادیکال باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Beligni and Lamattina, 1999). چون O_2 و H_2O_2 بسیار سمی‌تر از NO و $ONOO^-$ هستند، بنابراین اعتقاد بر این است که NO دارای

نقش دوگانه سمی و حفاظتی است و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، سن گیاه، بافت گیاه و نوع تنش وارد شده دارد (Del Rio *et al*., 2004 ; Beligni and Lamattina, 1999). NO برون‌زا در گیاهان باعث کاهش خسارات ناشی از برخی تنش‌ها مثل فلزات سنگین، علف‌کش‌ها، سرما، اشعه ماورای بنفش و تنش شوری شده است (Arasimowicz and Floryszak-wieczorek, 2007).

در پژوهش حاضر، اثرات تعدیل کننده سدیم نیترو پروساید در شرایط تحمیل تنش آرسنیک در محیط بررسی گردید. بررسی میزان کلروفیل به‌عنوان رنگیزه مؤثر در سنتز مواد قندی، همچنین تغییر میزان قندهای محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در شرایط ذکر شده از اهداف این تحقیق به‌شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، سویا (*Glycine max* L.) رقم DPX، متعلق به تیره بقولات بود. بذرها از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. برای این منظور ابتدا بذرهای یکسان با سدیم هیپوکلریت ۰/۳ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده و سپس دو بار با آب مقطر شستشه شدند. برای کشت گیاه، از گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر حاوی پرلیت استفاده شد. سپس بذرهای خیس خورده به گلدان‌ها منتقل شدند. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر گلدان یک بذر به عنوان یک نمونه کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت در گلخانه، تحت شرایط نوری (۱۶: ۸) (نور/تاریکی) با شدت نور حدود ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، رطوبت ۷۵ درصد و دمای (۲۵/۲۰) درجه سلسیوس (شب/روز) قرار گرفتند و به منظور تامین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، گلدان‌ها هفته‌ای سه مرتبه با نصف محلول غذایی هوگلند با pH تقریبی ۱± ۵/۷ آبیاری شدند. پس از این‌که گیاهان به رشد کافی رسیدند (مرحله چهار برگی)، به مدت یک هفته به صورت یک روز در میان، تیمارهای آرسنیک و سدیم نیتروپروساید به‌طور همزمان شروع شد. به منظور تهیه‌ی محلول‌هایی با غلظت‌های صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار آرسنیک، مقدار مناسبی از استوک میلی‌مولار آرسنیک از نمک هیدروژن‌دی سدیم آرسنات (Na_2HASO_4) تهیه شد و به محلول هوگلند اضافه گردید و pH محلول‌ها با استفاده از اسیدکلریدریک و سود یک میلی‌مولار تنظیم شد. محلول‌ها به صورت یک روز در میان به حجم ۵۰ میلی‌لیتر به گلدان‌ها اضافه و در فواصل بین تیمارها به منظور مرطوب نگه داشتن محیط پرلیت و ممانعت از تجمع بیش از حد نمک در گلدان‌ها از آب مقطر استفاده شد. محلول‌دهی گیاهان با SNP نیز با غلظت‌های صفر و۱۰۰ میکرومولار به مدت یک هفته هر روز همزمان با تیمار سدیم نیترو پروساید ادامه داشت و پس از یک هفته بعد از پایان تیمارها، نمونه‌ها برداشت شدند. غلظت کلروفیل کل با روش لیشنهالر (Lichtenthaler, 1987) انجام شد. اندازه‌گیری مالون‌دآلدئید (MDA) برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها، به روش هیث و پیکر (Heath and Paker, 1969) انجام شد. سنجش پراکسیدهیدروژن با استفاده از روش ولیکووا و همکاران (Velikova *et al*., 2000) انجام شد. برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس (Bates, 1973) استفاده شد. غلظت قندهای محلول نمونه‌ها با استفاده از معرف آنترون و بر اساس روش رُو (Roe, 1955) تعیین گردید. سنجش مقدار پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام گرفت. به این منظور یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر تریس- ساکارز با pH=۷/۵ به‌طور کامل ساییده شد. محلول همگن به‌دست آمده به لوله

سانتریفوژ منتقل و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به‌مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g، سانتریفوژ گردید. در پایان مرحله سانتریفوژ، لوله‌ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی در چند لوله آزمایش توزیع گردید. عصاره‌های حاصل برای سنجش غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور سنجش غلظت پروتئین به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و پنج میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعاً ورتکس شد. پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت، جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه‌کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر و با روش دهیندسا و همکاران (Dhindsa *et al.*, 1981) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار می‌باشد. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌آنزیمی به مخلوط ذکرشده، واکنش شروع شد. شاهد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر، شامل مخلوط واکنش اما فاقد عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب (یعنی تفاضل جذب در زمان شروع واکنش از جذب در زمان یک دقیقه)، پس از شروع واکنش محاسبه گردید. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیـتر عصاره در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکل تشکیل شده از گایاکل در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH= ۷، پراکسید هیدروژن (۰/۳٪) و گایاکل (۰/۱٪) می‌باشد. واکنش با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره‌آنزیمی به مخلوط واکنش در ۲۵ درجه سلسیوس آغاز گردید. میزان جذب تتراگایاکول (حاصل از اکسید شدن گایاکول) در ۴۷۰ نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در یک دقیقه در ۴۷۰ نانومتر، ضریب خاموشی تتراگایاکل (ε=۲۵/۵ $mMol^{-1}cm^{-1}$) و فرمول A= εbc، مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه شد (Plewa *et al.*, 1991). مخلوط واکنش شامل بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ میلی‌مول با pH= ۷، آسکوربات ۵ /۰ میلی‌مولار، H_2O_2 ۰/۱۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. به دنبال اکسید شدن آسکوربات با شروع واکنش آنزیمی، کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس از شروع واکنش نسبت به زمان شروع واکنش محاسبه شد. با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، ضریب خاموشی آسکوربات (۲/۸ $mMol^{-1}cm^{-1}$) و فرمول A=εbc، میزان آسکوربات برجای مانده پس از دو دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند (Nakano and Asada, 1981).

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایشی شامل، غلظت SNP در ۴ سطح و غلظت‌های آرسنیک در ۳ سطح بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ و آزمون ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

اثر عوامل آزمایشی بر صفات بررسی شده در جدول ۱ ارایه شده است.

غلظت کلروفیل کل

بر اساس نتایج، غلظت کلروفیل کل، با افزایش سطوح آرسنیک در محیط به‌طور نسبی کاهش یافت و به دنبال آن با تیمار SNP در هریک از تیمارها، روند افزایشی پیدا کرد (شکل ۱). کاهش غلظت کلروفیل و جلوگیری از فرآیند فتوسنتز توسط فلزات سنگین در گیاهان عالی به ویژه گیاهان C_3 به خوبی مشخص شد است (Connell and AL-Hamdani, 2001).

گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر منفی آرسنیک بر غلظت کلروفیل و کاروتنوئید وجود دارد (Shaibur *et al*., 2008). کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید بر اثر تیمار آرسنیک در گیاه جو (Stoeva and Bineva, 2003)، برنج (Stancheva *et al*., 1999)، گندم (Chun-xi *et al*., 2007) و سورگوم (Shaibur *et al*., 2008) گزارش شده است. چون‌زی و همکاران (Chun-xi et al., 2007) معتقدند که کاهش کلروفیل عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل است. آرسنیک دارای یک اثر مهاری وابسته به غلظت، بر سنتز کلروفیل می‌باشد. این نظریه پیشنهاد می‌کند که سیستم سنتز و تجزیه کلروفیل توسط غلظت‌های بالای آرسنیک تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Chun-xi *et al*., 2007). افزایش غلظت آرسنیک باعث تغییر شکل کلروپلاست، گرد شدن و کوتاه شدن محور طولی سلول، تو رفتگی غشاء، خمیدگی و تخریب غشاء شده که در نتیجه موجب کاهش غلظت کلروفیل برگ می‌گردد (Miteva and Merakchysk, 2002). همچنین، تغییر در نفوذپذیری غشای کلروپلاست به علت پراکسیداسیون لیپیدها، در واکنش به سمیت آرسنیک، می‌تواند در کاهش محتوی رنگیزه‌های گیاه دخیل باشد. انواع اکسیژن فعال که به طور مستقیم و یا غیر مستقیم در اثر تنش آرسنیک ایجاد می‌شوند، آسیب جدی به اجزای مختلف سلولی به ویژه غشاهای زیستی از جمله غشاهای تیلاکوئیدی در پروتوپلاست‌ها وارد می‌کنند (Stoeva and Bineva, 2003). مطالعات انجام شده بر روی گندم و لوبیا نشان می‌دهد که کلروز ایجاد شده در این گیاهان، نتیجه‌ی القای تنش اکسیداتیو توسط آرسنیک بوده که منجر به کاهش غلظت کلروفیل برگ‌ها، تغییر شکل کلروپلاست و تخریب ساختار کاروتنوئیدها می‌گردد (Liu *et al*., 2008; Miteva and Merakchyiska, 2002). کاهش میزان کلروفیلb، کارآیی به دام انداختن انرژی توسط فتوسیستم II را کاهش می‌دهد (Kranner and Colville, 2011). در مورد اثر نیتریک اکسید بر غلظت کلروفیل گزارش شده است که این ماده به دلیـــل قابلیت ترکیب با رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌تواند از تخریب کلروفیل و پروتئین‌های دستگاه فتوسنتزی به خصوص پروتئین D_1 بکاهد و باعث افزایش مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش گردد (Lei *et al*., 2007). مثلاً گزارش شده است که نیتریک اکسید موجب افزایش غلظت کلروفیل در بوته‌های نخود فرنگی تحت تنش شوری می‌گردد (Sheokand *et al*., 2008).

غلظت قند محلول

در این پژوهش تیمار آرسنیک، غلظت قند محلول در گیاه را افزایش داد، همچنین تیمارهای توام SNP و آرسنیک ۱۵۰ میکرومولار هم باعث افزایش غلظت قند نسبت به نمونه شاهد گردید (شکل ۲). در مورد اثر تنش فلز سنگین گزارش شده است که در گیاهچه‌های موز، با افزایش غلظت مس محتوای قند در شاخساره گیاهان تحت تیمار افزایش

یافته است که این امر احتمالاً می‌تواند تنش ناشی از مس را خنثی کند (Deo and Nayak, 2011). همچنین، در گیاه ریحان تحت تنش آرسنیک افزایش در میزان قندهای محلول و احیا کننده مشاهده شده است. نتایج پژوهش ژو و دوبی (Jha and Dubey, 2004) نشان داده است که در گیاه برنج آرسنیک تبدیل قندهای غیر احیایی مانند سوکروز به قندهای احیایی مانند گلوکز و فروکتوز را افزایش داده و آنزیم‌های سازنده سوکروز مانند سوکروز فسفات سنتتاز را مهار می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده سوکروز مانند اینورتاز و سوکروز سینتتاز در اثر آرسنیک افزایش یافته است. بنابراین، آرسنیک احتمالاً با مهار فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده نشاسته مانند آمیلازها و تحریک آنزیم‌های تجزیه کننده سوکروز باعث تجمع نشاسته و کاهش حجم مخزن سوکروز در گیاه می‌شود (Jha and Dubey, 2004) که می‌تواند توجیهی بر افزایش قندهای محلول در اثر آرسنیک در پژوهش حاضر باشد.

محتوای مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

هنگامی که گیاه در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرد، انواع گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌شوند(Allen, 1995). رادیکال‌های آزاد، متابولیسم سلولی را از طریق پراکسیداسیدن لیپیدها، واسرشته کردن پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، برهم می‌زنند (Bor *et al*., 2003). پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تجزیه و تخریب ترکیبات ساختاری می‌گردد (Lester and Stein, 1993) ماکرومولکول‌های لیپیدی، به ویژه لیپیدهای غیر اشباع نسبت به اکسیداسیون توسط انواع اکسیژن فعال حساس هستند، بنابراین حضور سطوح افزایش یافته‌ی مالون دی‌آلدهید به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی، معرف تنش شدید اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Behnamnia *et al*., 2009). محتوای مالون‌دی آلدهید و پراکسیدهیدروژن، به عنوان دو شاخص تنش اکسیداتیو، در شاخساره گیاه سویا با افزایش غلظت آرسنیک در محلول غذایی افزایش معنی‌داری داشت، در حالی که در نمونه‌های تیمار شده با SNP مقدار آنها در برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۴و۵). القای تنش اکسیداتیو و افزایش مالون دی‌آلدهید در اثر تیمار آرسنیک در گیاهان ذرت (Stoeva *et al*., 2004) برنج (Shri *et al*., 2009)، گندم (Chun-xi *et al*., 2007) و لوبیا (Vazquez *et al*., 2008) گزارش شده است. در این مطالعه، افزایش مقدار پراکسیدهیدروژن در برگ‌های گیاه سویا به دلیل القای تنش اکسیداتیو ناشی از تنش آرسنیک بوده است. برخی از پژوهش‌گران بر این عقیده‌اند که آرسنیک با اختلال در متابولیسم فسفر و کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های حیاتی باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن از جمله H_2O_2 در گیاه می‌شود (Singh *et al*., 2009). در مورد نقش NO در گیاه ذرت مشاهده شده است که پیش تیمار گیاه با SNP، تنش ناشی از آهن را تخفیف داده و موجب کاهش مقدار پراکسیدهیدروژن گردید (Sun *et al*., 2007). همچنین، در گیاه گوجه‌فرنگی مشاهده شده است که پیش تیمار SNP، مقدار پراکسیدهیدروژن را در برگ‌های تحت تنش خشکی کاهش داده است (Nasibi *et al*., 2011). در گیاه *Nymphoides peltatum* تحت تنش مس مشاهده شده که پیش تیمار با پلی‌آمین‌های برون‌زا باعث کاهش پراکسید هیدروژن گردیده است (Wang *et al*., 2006). گزارش شده است که نقش NO در جلوگیری از پراکسیداسیون و آسیب‌های دیگر غشایی به علت توانایی آن در واکنش با رادیکال‌های لیپید آلکوکسیل (LO) و لیپیدپراکسیل (LOO) و توقف زنجیره

پراکسیداسیون است (Beligni and Lamatina, 1999). علاوه بر این، گزارشی وجود دارد که نیتریک اکسید فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز در مسیر پراکسیداسیون لیپیدها را با احیای آهن جایگاه فعال از شکل فریک (Fe^{+3}) به شکل فرو (Fe^{+2}) باز می‌دارد که در حفظ ساختار و تمامیت غشاهای زیستی در مقابله با سمیت فلز سنگین آرسنیک نقش اساسی داشته است (Zhu *et al*., 2006).

میزان پرولین

یکی از راه‌های مقابله با تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی سنتز ترکیبات سازگار و محافظ اسمزی می‌باشد که پرولین از جمله این ترکیبات می‌باشد. پرولین در حفظ تعادل آب، حفظ ثبات پروتئین‌ها، حفظ ساختار سه بعدی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، تثبیت کردن غشاها و دستگاه سنتز پروتئین، منبع ذخیره کربن و نیتروژن برای رشد بعد از رفع تنش، کاهش خطرات حاصل از تولید ROS، جاروب کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، خاموش کردن اکسیژن یکتائی و تنظیم pH سلولی نقش دارد (Verbuggen and Hermans, 2008). در این پژوهش، میزان پرولین در شاخساره گیاه سویا با افزایش غلظت آرسنیک در محلول غذایی افزایش یافت و تیمار SNP نیز باعث افزایش میزان پرولین در شرایط تنش شد (شکل ۳). تجمع پرولین در لوبیا تحت تأثیر کادمیم نیز گزارش شده است (Zengin and Munzuroglu, 2005). در مطالعه روی گیاه خیار مشاهده شده است که میزان پرولین در ریشه این گیاه تحت تنش شوری و نیتریک‌اکسید (NO) برون‌زا کاهش می‌یابد (Arasimowicz-Jelonek *et al.*, 2009). همچنین، در گیاه گندم (*Triticum aestivum*) که با SNP پیش‌تیمار شده بود تحت تنش اسمزی مقدار پرولین کاهش یافت (Lei *et al*., 2007). گزارش شده است که NO از طریق بیوسنتز ABA باعث افزایش سنتز پرولین می‌شود (Zhang *et al*., 2005). علاوه بر این، القای فعالیت آنزیم پیرولین ۵-کربوکسیلاز به عنوان آنزیم اصلی در مسیر بیوسنتز پرولین، توسط NO در گیاهچه در حال رشد برنج تحت تنش شوری گزارش شده است (Uchida *et al*., 2002). در پژوهش حاضر در شرایط تنش اکسیداتیو افزایش در میزان پروتئین مشاهده گردید (جدول ۲). دلیل افزایش مقدار پروتئین در تیمار آرسنیک را می‌توان مهار رشد توسط این شبه فلز دانست. محققین معتقدند به دلیل کاهش رشد در گیاهان در معرض تنش، پروتئین‌ها به عنوان سوبستراهای اصلی برای رشد مصرف نشده و در گیاه تجمع می‌یابند (Yu *et al*.,1995). علاوه براین، قرار گرفتن گیاه در معرض تنش‌های محیطی مثل فلزات سنگین موجب سنتز پروتئین‌های ویژه تنشی به‌نام پروتئین‌های شوک حرارتی در سلول می‌شود. این ترکیبات سایر پروتئین‌ها و غشاهای سلولی را در برابر آسیب برگشت ناپذیر ناشی از تنش حمایت کرده و در مقاومت گیاه در برابر فلز سنگین نقش اساسی دارد (Hall, 2002). در این مطالعه مشاهده شد که تیمار گیاهان با SNP باعث افزایش سنتز پروتئین در گیاهان تحت تیمار گردید. در گیاه ذرت خوشه‌ای نیز گزارش شده است که کاربرد SNP از طریق مهار فرایندهای القاکننده تنش اکسیداتیو در گیاه موجب کاهش اکسیداسیون پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آنها شده است (Jasid *et al*., 2008).

فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX

برای بررسی نقش آنزیم‌های اکسیداتیو در برابر تنش، در پژوهش حاضر فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX اندازه‌گیری شد. در این مطالعه مشاهده شد که تیمار آرسنیک باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها گردید و تیمار با SNP باعث افزایش فعالیت

آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز تحت شرایط تنش شد (جدول ۲).

در شرایط تنش‌های محیطی، مثل فلزات سنگین، فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای بالای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی برای تحمل گیاه به تنش بسیار مهم است. همچنین، در گیاهان ذرت و ماش تحت تیمار آرسنات و آرسنیت، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شده است (Duquesnoy *et al*., 2010). افزایش فعالیت GPX در گیاهان برنج تیمار شده با شبه فلز آرسنات گزارش شده است (Singh *et al*., 2009). در این پژوهش چنین به نظر می‌رسد که افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای جبران افزایش H_2O_2 و تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت آرسنیک کافی نبوده و میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بیشتر بوده است بنابراین، در گیاهان در معرض آرسنیک، تنش اکسیداتیو رخ داده است. در این شرایط، تیمار SNP موجب کاهش فعالیت CAT و افزایش فعالیت GPX و APX در شرایط تنش شد. گزارش شده در گیاه گوجه‌فرنگی آرژینین و SNP باعث کاهش فعالیت کاتالاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش خشکی شد (Nasibi *et al*., 2011). افزایش فعالیت GPX و APX با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپید، H_2O_2 در این نمونه‌ها همراه بود بنابراین، نیتریک اکسید علاوه بر تاثیر مستقیم بر نابودی رادیکال‌های آزاد، به‌طور غیرمستقیم نیز می‌تواند با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه به خصوص تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب کاهش غلظت رادیکال آزاد و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه شود (Panda *et al*., 2011).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از پارامترهای اندازه‌گیری شده در این پژوهش نشان می‌دهد که تیمار آرسنیک باعث ایجاد سمیت در گیاه سویا شد در حالی‌که کاربرد SNP باعث تخفیف میزان تنش در گیاهان تحت سمیت آرسنیک گردید. بررسی‌ها نشان داد که SNP با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و از طریق حفظ تمامیت غشاهای زیستی، کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن و تغییر متابولیسم برخی ترکیبات سلولی، آستانه تحمل گیاه را در برابر آرسنیک اسید افزایش می‌دهد.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه سویا

Table 1- Analysis of variance for measured traits in *Glycine max*

S.O.V.	درجه آزادی df	MS(میانگین مربعات) کلروفیل کل Total chl	پرولین Proline	قند محلول Soluble Sugar	هیدروژن پراکسید H_2O_2	مالون دآلدهید MDA	پروتئین Protein	کاتالاز CAT	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکول پراکسیداز GPX
سدیم نیتروپروساید SNP	3	0.669 *	95.88*	3.562**	143.22*	102.33**	349.71**	3.731**	1.002**	1.011*
آرسنیک As	2	1.637 *	321.54**	1.554**	825.01**	43.214*	155.27**	6.232**	2.247**	0.938**
Interaction برهمکنش	6	1.916**	78.122*	2.937**	111.76 *	14.23*	247.52**	0.661**	0.871*	0.899*
خطا Error	41	0.97	4.561	7.43	11.64	1.69	104.15**	0.135	0.918	0.811
ضریب تغییرات (%) CV										

* و** به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ و ns فاقد اختلاف معنی‌دار.

*and** significant at the 5% and 1% of probability levels, respectively and ns non significant.

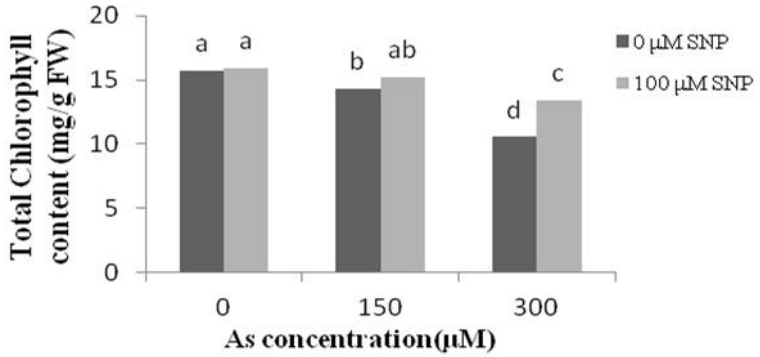
جدول ۲- اثر تیمار سدیم‌نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و میزان پروتئین در شاخساره گیاه سویا تحت تنش آرسنیک

Table 2- Effect of treatment of SNP on the activity of catalase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and protein content in shoots of soybean under Arsenic stress

تیمار Treatment	پروتئین Protein(mg/gFW)	کاتالاز CAT(Unit/mg protein)	آسکوربات پراکسیداز APX(Unit/mg protein)	گایاکول پراکسیداز GPX(Unit/mg protein)
شاهد (Control)	23.18 a	3.61c	0.81e	48.21c
SNP ۱۰۰ میکرومولار (SNP 100 µM)	23.83 a	3.12 c	0.98 e	46.13 c
آرسنیک ۱۵۰ میکرو مولار (As 150 µM)	13.12 c	9.85 a	2.28 d	147.45 b
SNP+آرسنیک ۱۵۰ (SNP +As 150 µM)	17.91 b	7.55 b	6.14 a	178.64 a
آرسنیک ۳۰۰ میکرومولار (As 200 µM)	10.56 d	10.23 a	4.86 c	161.87 ab
SNP+آرسنیک ۳۰۰ (SNP+ As 300 µM)	13.55 c	7.64 b	5.38 b	206.73 a

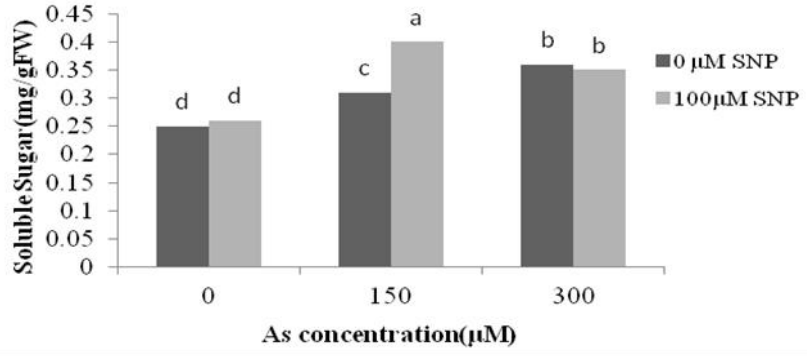
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون درای اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نمی‌باشند.

Means folowed by similar leters in each column are not significantly diferent at p=5%, based on Duncan Multiple Range Test



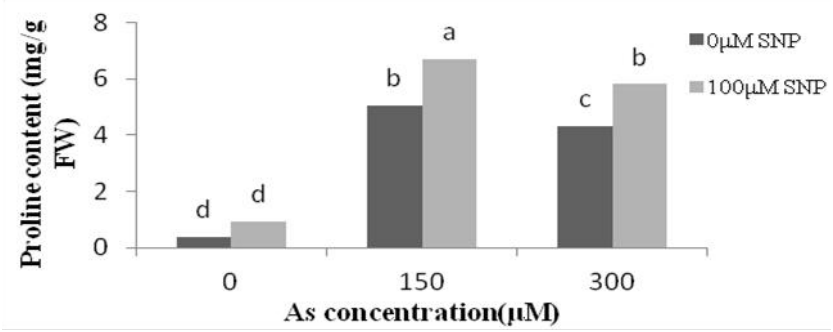
شکل ۱- اثر ترکیب تیماری سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر غلظت کلروفیل کل برگ گیاه سویا

Figure 1- Effect of treatment combination of SNP and Arsenic on Total Chlorophyll content



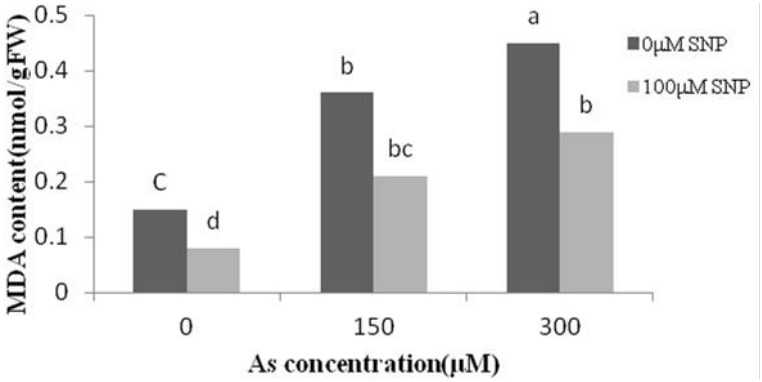
شکل ۲- اثر ترکیب تیماری سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر میزان قند محلول برگ گیاه سویا

Figure 2- Effect of treatment combination of SNP and Arsenic on Soluble Sugar content.



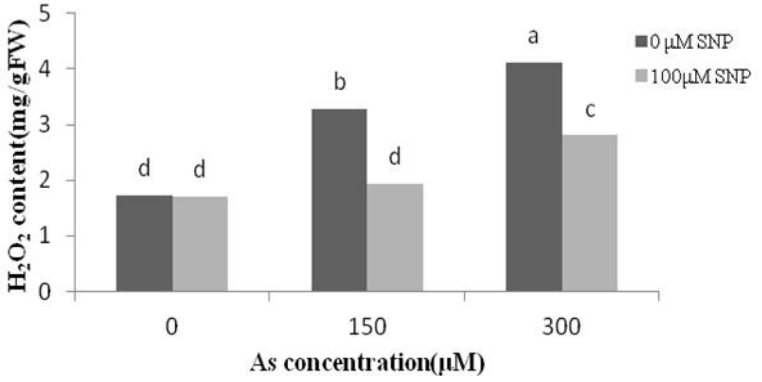
شکل ۳- اثر ترکیب تیماری سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر میزان پرولین برگ گیاه سویا

Figure 3- Effect of treatment combination of SNP and Arsenic on proline content.



شکل ۴- اثر ترکیب تیماری سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر میزان مالون دی آلدهید برگ گیاه سویا

Figure 4- Effect of treatment combination of SNP and Arsenic on MDA content



شکل ۵- اثر ترکیب تیماری سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر میزان پراکسید هیدروژن برگ گیاه سویا

Figure 5- Effect of treatment combination of SNP and Arsenic on H_2O_2 content

References منابع مورد استفاده

- Allen, R. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology*. 107: 1049- 1054.
- Arasimowicz-Jelonek, M., and J. Floryszak-Wieczorek. 2007. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. *Plant Science*. 172: 876-887
- Arasimowicz-Jelonek, M., J. Floryszak-Wieczorek, and J. Kubis. 2009. Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots. *Plant Science*. 177: 682-690.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Behnamnia, M., K. Manouchehri Kalantari, and J. Ziaie. 2009. Effects of brassinosteroid on the induction of biochemical changes in *Lycopersicon esculentum* under drought stress. *Turkish Journal of Botany*. 33: 417-428.
- Beligni, M.V., and L. Lamattina. 1999. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. *Planta*. 208: 337-344
- Bor, M., F. Özdemir, and I. TüKan. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leave of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*Beta maritime* L.). *Journal of Plant Science*. 163: 77-84
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Chun-xi, L., F. Shu-li, S.H. Yan, J. Li-na, L. Xu-yang, and H. Xiao-li. 2007. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. *Journal of Environmental Science*. 19: 725-732.
- Connell, S.L., and S.H. AL-Hamdani. 2001. Selected physiological responses of Kudzu to different chromium concentration. *Canadian Journal of Plant Science*. 81: 33-58.
- Del Rio, L.A., F.J. Corpas, and J. B. Barroso. 2004. Nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry*. 65: 783- 792.
- Deo, B., and P.K. Nayak. 2011. Study of copper phytotoxicity on in vitro culture of *Musa acuminata* cv.'Bantala'. *Journal of Agricultural Biotechnology Sustainable Development*. 3(8): 136-140.
- Dhindsa, R.S., P. Plumb–Dhindsa, and T.A. Thrope. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid per oxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32: 43-101.

- Duan, X., X. Su, Y. You, H. Qu, Y. Li, and Y. Jiang. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browing of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry*. 104: 571-576.
- Duquesnoy, I., G.M. Champeau, G. Evray, G. Ledoigt, and A. Piquet-Pissaloux. 2010. Enzymatic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Zea mays* and genotoxic effect of arsenic in root tips of *Vicia faba* and *Zea mays*. *Comptes Rendus Biologies*. 333: 814-824
- 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*. 314: 211-220
- Hall, J.L. 2002. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*. 53(336): 1 -11.
- Heath, R. L., and L. Packer. 1969. Photo peroxidation in isolated chloroplast: kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysics.* 125: 189-198.
- Herbinger, K., M. Tausz, A. Wonisch, G. Soja, A. Sorger, and D. Grill. 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defense systems of two wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40: 691-696.
- Jain, M., and R. Gadre, 2004. Inhibition of 5-amino levulinic acid dehydratase activity by arsenic in excised etiolated maize leaf segments during greening. *Plant Physiology*. 161: 251-255
- Jasid, S.N., M. Simontacchi, and S. Puntarulo. 2008. Exposure to nitric oxide protects against oxidative damage but increases the labile iron pool in sorghum embryonic axes. *Journal of Experimental Botany.* 12: 1-10.
- Jha, A.B., and R.S. Dubey. 2004. Carbohydrate metabolism in growing rice seedling under arsenic toxicity. *Plant Physiology*. 161: 867-872.
- Karimi, N., S.M. Ghaderian, H. Marofi, and H. Schat. 2010. Analysis of arsenic in soil and vegetation of a contaminated area in Zarshuran, Iran, identify two angiosperm arsenic hyperaccumulators. *International Journal Phytoremediation.* 12: 159-173.
- Kranner, I., and L. Colville. 2011. Metals and seeds: Biochemical and molecular implication and their significance for seed germination. *Journal of Experimental Botany*. 72: 93-105.
- Lei, Y., C. Yin, J. Ren, and C. Li. 2007. Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. *Biologia Plantarum.* 51: 386-390.
- Lester, G.E., and F. Stein. 1993. Plasma membrane physicochemical changes during maturation and postharvest storage of muskmelon fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 118: 223-227.

- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*. 148: 350-382
- Liu, Q., C. Hu, Q. Tan, X. Sun, J. Su, and Y. Liang. 2008. Effects of as on as uptake, speciation and nutrient by winter wheat (*Triticum aestivum*) under arsenate co contamination. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 68: 505-313.
- Meharg, A.A., and M.R. Macnair. 1992. Genetic correlation between arsenate tolerance and the rate of arsenate and phosphate uptake in *Holcus lanatus* L. *Heredity*. 69: 336-341.
- Miteva, E., and M. Merakchysk. 2002. Response of chloroplasts and photosynthetic mechanism of bean plants to excess arsenic in soil. *Bulgarian Agricultural Science.* 8: 151-156
- Mithofer, A., B. Schulze, and W. Boland. 2004. Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Letters.* 566: 1-5.
- Morel, F.M.M. 2008. The co-evolution of phytoplankton and trace element cycle in the oceans. *Geobiology.* 6: 318-24.
- Nakano, Y., and K. Asado. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22(5): 867-880.
- Nasibi, F., M.M. Yaghoobi, and Kh. Kalantari. 2011. Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant under water stress. *Plant Interactions*. 6: 291-296.
- Neill, J., D. Radhika, and J. Hancock. 2003. Nitric oxide signaling in plant. *New Phytologists.* 159: 11-35.
- Panda, P., Sh. Nath, Th.Th. Chanu, G.D. Sharma, and S.K. Panda 2011. Cadmium stress-induced oxidative stress and role of nitric oxide in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Physiologiae Plantarum.* 33: 1737-1747
- Plewa, M.J., S.R. Smith, and E.D. Wanger. 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*. 247: 57-64.
- Roe, J.H. 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry.* 212: 335-343.
- Roy, P., and A. Saha. 2002. Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Current Science.* 82: 38-45.
- Shaibur, M.R., N. Kitajima, R. Sugawara, T. Kondo, Sh. Alam, S.M. Imamul-Huq, and Sh. Kawai. 2008. Critical toxicity level of arsenic and elemental composition of arsenic-Induced chlorosis in hydroponic sorghum. *Water Air and Soil Pollution*. 191: 279-292.
- Sheokand, S., A. Kumari, and V. Sawhney. 2008. Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chick pea plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 14(4): 355-362.

- Shri, M., S. Kumar, D. Chakrabarty, P.K. Trivedi, S. Mallick, P. Misra, D. Shukla, S. Mishra, S. Srivastava, R.D. Tripathi, and R. Tuli. 2009. Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72: 1102-1110.
- Singh, H.P., D.R. Batish, R.K. Kohli, and K. Arora. 2007. Arsenic induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*. 5: 65-73.
- Singh, H.P., S. Kaur, D.R. Batish, V.P. Sharma, and N. Sharma. 2009. Nitric oxide alleviates arsenic toxicity by reducing oxidative damage in the roots of *Oryza sativa* (rice). *Nitric Oxide*. 20: 289-297.
- Stancheva, I., N. Kaloianova, and E. Atanasova. 1999. Effect of copper and arsenic on the yield and plastid pigment content of rice inoculated with *Azospirilum Brasilense*. *Soil Science*. 39(4-5): 140-143.
- Stoeva, N., and T.Z. Bineva. 2003. Oxidative changes and photosynthesis in Oat plants grow in as contaminated soil. *Plant Physiology*. 29: 87-95
- Stoeva, N., M. Berova, and Z. Zlatez. 2004. Physiological response of maize to arsenic contamination. *Planta*. 47(3): 449-452.
- Sun, B., J. Yan, K. Chen, L. Song, F. Chen, and L. Zhang. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). *Plant Physiology*. 164: 536-543.
- Tu, C., and L. Q. Ma. 2003. Effects of arsenate and phosphate on their accumulation by an arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. *Plant and Soil*. 249: 373-382.
- Uchida, A., T. Jagendorf, and T. Hibino. 2002. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*. 163: 515-523.
- Vazquez, S., E. Esteban, and R.O. Carpena. 2008. Evolution of arsenate toxicity in nodulated white lupine in a long-term culture. *Journal of Agricultural and Food Science*. 56(18): 8580-8587.
- Velikova, V., I. Yordanov, and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59-66.
- Verbruggen, N., and C. Hermans. 2008. Proline-accumulation in plants: a review. *Amino Acids*. 35(4): 753-759.
- Wang, X., S. Guoxin, X. Qinsong, and H. Jinzhao. 2006. Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatum*. *Plant Physiology*. 164: 1062-1070.
- Wieczorek, J.F., G. Milczarek, M. Arasimovicz, and A. Ciszewski. 2006. Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants. *Planta*. 224: 1363-1372.

- Yu, T.Q., L.N. Chai, and Z.P. Liu. 1995. Expression of the soluble protein in water-stressed wheat seedlings and the drought-resistant proteins. *Beijing Agricultural College*. 10(1): 26-31
- Zengin, F.K., and O. Munzuroglu. 2005. Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biological Cracoviensia Series Botanica*. 47: 157-164.
- Zhang, Z., O. Pang, X. Duan, Z.L. Ji, and Y. Jiang. 2005. Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*. 90: 47-52
- Zhao, F.J., J.F. Ma, A.A. Meharg, and S.P. Mc Grath. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*. 181: 777-794.
- Zhu, S., M. Liu, and J. Zhou. 2006. Inhibition by nitric oxide of ethylene biosynthesis and lipoxygenase activity in peach fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*. 42: 41 -48.

Reducing Arsenic Toxicity Stress in Soybean (*Glycine max* L.) by Using of Sodium Nitroprusside

Elham Asadi karam[1*], Batool Keramat[1], and Hossein Mozaffari [2]

Received: June 2014, Revised: 24 November 2015, Accepted: 16 February 2016

Abstract

Arsenic contamination is one of the most important compounds all over the world. Arsenic in different ways, including the formation of reactive oxygen species and membrane lipid peroxidation impairs growth of plants. In this study, the effect of arsenic and sodium nitroprusside (SNP) were evaluated on soybean. Soybean at four leaf stage was treated with different concentrations of arsenic (0, 150 and 300 mM) and SNP (0 and 100 mM), and then concentrations of hydrogen peroxide, proline, malondialdehyde and activity of antioxidant enzymes in its shoot were measured. The results showed that increasing concentration of arsenic in Hoagland solution reduced total chlorophyll content in the shoot and increased the activity of catalase and peroxidase significantly. It was also observed that treating plants with arsenic increased hydrogen peroxid accumulation which resulted in peroxidation of membrane lipids. Higher malondialdehyde content confirmed this result. Using SNP in the medium containing arsenic increased total chlorophyll content, activities of guaiacol peroxidase enzyme and ascorbate peroxidase, significantly. However, the catalase activity in this case decreased. Thus it can be concluded that using SNP, would reduce effectively the damage of oxidation.

Key words: Arsenic, Antioxidants, Sodium nitroprusside, Soybean.

1- Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran.
2- Environmental Research Institute, the International Center for Advanced Science and Technology, and Environmental Sciences Kerman, Iran.
* *Corresponding Author: Asadikaram_e2007@yahoo.com*