بررسی محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید بر صفات زراعی و فیزیولوژیک گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در خاک‌های آلوده به آرسنیک

Study of sodium nitroprusside spraying on the agronomic and physiological traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in arsenic contaminated soils.

منصور فرجی[۱]، میثم اویسی[۲*]، پورنگ کسرایی [۲]

۱- گروه اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران – ایران.
۲- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران – ایران.

***نویسنده مسوول مکاتبات:** meysam_oveysi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۲۸

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید بر رشد و خصوصیات کمی و کیفی گلرنگ پاییزه در خاک آلوده به آرسنیک، آزمایش به‌صورت گلدانی در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل عامل اول محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید در سه سطح: (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و عامل دوم آلوده‌کردن خاک با آرسنیک در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد آرسنیک و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه، وزن هزار دانه، آنزیم کاتالاز، محتوای مالون دی آلدئید، محتوای پرولین و آرسنیک دانه گلرنگ داشتند. بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمارهای سدیم نیتروپروساید در کاربرد ۱۰۰ میکرومولار (با میانگین ۱/۰۱ گرم در بوته) حاصل شد و کمترین آن نیز مربوط به تیمار شاهد (عدم کاربرد) با میانگین ۰/۸۳ گرم در بوته بود. با افزایش غلظت آرسنیک، عملکرد و اجزای عملکرد کاهش یافت و از طرفی گیاه محتوای پرولین خود را برای مقابله با تنش افزایش داد. کاربرد سدیم نیتروپروساید باعث تخفیف میزان تنش در گیاهان تحت سمیت آرسنیک گردید. با افزایش سطح آرسنیک، محتوای آرسنیک دانه نیز افزایش یافت و کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب کاهش معنی‌دار محتوای آرسنیک دانه گردید. به‌طورکلی کاربرد سدیم نیتروپروساید به‌عنوان تنظیم کننده در سوخت و ساز رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از آلودگی خاک به آرسنیک شد.

واژگان کلیدی: آرسنیک، سدیم نیتروپروساید، گلرنگ، فلزات سنگین، عملکرد.

مقدمه

آلودگی خاک با فلزات سنگین یکی از مشکلات زیست محیطی عمده در جوامع بشری است که علاوه بر اثرات زیان‌بار بر جوامع گیاهی و جانوری خاک و آلودگی منابع آب‌های زیرزمینی از طریق آبشویی، موجب کاهش عملکرد و کیفیت محصول و در نهایت به خطرافتادن سلامتی افراد جامعه و دیگر موجودات زنده می‌شود (یداالهی و همکاران، ۱۳۹۲). اگرچه فلزات سنگین می‌توانند به طور طبیعی و از طریق هوادیدگی سنگ‌ها و کانی‌ها و طی فرآیند خاک‌سازی در خاک تجمع یابند، اما این منبع طبیعی در مقایسه با فعالیت‌های انسان مانند احداث کارخانجات صنعتی، استخراج معادن، استفاده از آب‌های آلوده و پساب‌های صنعتی در کشاورزی، استفاده از آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها، مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و لجن فاضلاب دارای اهمیت کمی می‌باشد (Khoshgoftar, *et al*., 2004). تحقیقات نشان داد فلزات سنگین باعث تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند (Nasibi *et al*., 2011). فعالیت انواع گونه‌های فعال اکسیژن سبب بروز خسارات زیادی از جمله پراکسیداسیون لیپیدها، اکسید شدن پروتئین‌ها، بی‌رنگ شدن کلروپلاست‌ها و رنگدانه‌ها می‌گردند (Verbuggen and Hermans., 2009).

آرسنیک یکی از مهم‌ترین عناصر سنگین با ماندگاری اثر سمی طولانی است. منابع عمده آرسنیک در خاک معمولاً مشتق از سنگ بستر، عملیات ذوب، استفاده از آرسنات سرب و غیره است (یداالهی و همکاران، ۱۳۹۲). آرسنیک بر خلاف برخی دیگر از فلزات سنگین برای گیاهان عالی و موجودات دیگر ضروری نیست. آرسنیک در غلظت‌های بالا، برای انسان، حیوانات و گیاهان بسیار سمی است و به‌همین دلیل است که این عنصر در زمره آلاینده‌های خطرناک است (Azevedo and Lea, 2005). آرسنیک به علت شباهت به فسفر توسط ریشه جذب شده و در اثر واکنش با گروه سولفیدریل پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، باعث غیرفعال شدن آنها می‌شود و با دخالت در مسیرهای سوخت و ساز گیاهی از رشد گیاهان جلوگیری می‌کند (Liu *et al*., 2008). از دیگر علائم سمیت آرسنیک در گیاهان می‌توان به کاهش وزن تر، کاهش وزن خشک، کاهش رشد، کاهش بازده تولید میوه، کاهش طول ریشه و ارتفاع ساقه، کاهش انشعابات ریشه، کاهش جوانه‌زنی دانه، پلاسیدگی و زرد شدگی برگ‌ها، کاهش محتوای کلروفیل و پروتئین و به‌دنبال آن کاهش ظرفیت فتوسنتزی و نکروز برگی اشاره کرد (Singh *et al*., 2009). نیتریک اکسید به‌عنوان یک سیگنال مهم در فعالیت‌های مهم فیزیولوژیک گیاه مانند شروع جوانه‌زنی، گلدهی، رسیدگی میوه‌ها، پیری اندام‌ها، تقسیم سلول و افزایش میزان کلروفیل نقش دارد (Beligni and Lamattina, 2000). محققان تاثیر مثبت سدیم نیتروپروساید را در شرایط تنش فلزات سنگین گزارش کردند (Hsu and Kao, 2004). تحقیقات روی گیاه نخود نشان داد استفاده از سدیم نیتروپروساید موجب توسعه رشد گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین شده و موجب کاهش میزان فلزات سنگین موجود در قسمت‌های مختلف گیاه می‌گردد (Kumari *et al*., 2010). سدیم نیتروپروساید بسته‌شدن روزنه را تحریک و سلول‌ها را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. سدیم نیتروپروساید، اثرات تنش را از طریق کاهش نفوذ پذیری غشای و نشت الکترولیت‌ها و همچنین میزان H_2O_2 موجود در برگ را کاهش می‌دهد (Neil *et al*, 2008). نتایج حاصل از بررسی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر خصوصیات کمی گیاه دارویی کارلا نشان داد تنش عنصر سنگین موجب کاهش تعداد میوه در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، قطر و وزن میوه، کلروفیل و فلورسانس گردید (یداللهی و همکاران، ۱۳۹۲).

تحقیق حاضر به بررسی محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید در گیاه روغنی گلرنگ در خاک‌های آلوده آرسنیک صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر سطوح سدیم نیتروپروساید بر رشد و خصوصیات کمی و کیفی گلرنگ پاییزه (*Carthamus tinctorius* L.) در خاک آلوده به آرسنیک، در شرایط آب و هوایی ورامین با مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و ارتفاع از سطح دریا۹۸۰ متر آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ به‌صورت گلدانی در گلخانه‌ی

تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین اجرا شد. عامل اول: محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید در سه سطح: صفر (محلول‌پاشی با آب خاص به‌عنوان شاهد)، ۵۰ میکرومولار، ۱۰۰ میکرومولار و عامل دوم: آرسنیک در چهار سطح: صفر (بدون آلوده کردن خاک با آرسنیک به‌عنوان شاهد)، ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک.

رقم گلرنگ مورد استفاده رقم گلدشت بود. بذور به‌طور مستقیم و به‌صورت کپه‌ای درگلدان‌ها کشت شدند. طبق آزمون خاک (جدول یک) میزان ۱۰۰ کیلوگرم اوره و سوپرفسفات‌ترپیل و ۵۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم در هکتار (برای اوره و سوپرفسفات تریپل هر کدام برابر با ۰/۷ و ۰/۳۵ گرم سولفات پتاسیم برای هر گلدان) به خاک گلدان‌ها اضافه گردید. مقادیر مختلف آرسنیک براساس تیمارهای مورد آزمایش محاسبه و قبل از کاشت با خاک گلدان‌ها مخلوط شد و سپس بذرها درعمق پنج سانتی‌متری سطح خاک قرار داده شد. محلول‌پاشی بوته‌ها با سدیم نیتروپروساید پس از استقرار کامل بوته‌ها اعمال شد، به‌طوری‌که برگ‌های گیاه کاملا خیس شدند. به منظور بهبود جذب برگی سدیم نیتروپروساید، از تریتون X100 با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده گردید. عملیات داشت شامل آبیاری گلدان‌ها، واکاری و تنک-کردن در طول دوره رشد به‌موقع انجام شد. جهت اندازه-گیری عملکرد تک بوته، در زمان رسیدگی فیزیولوژیک سه بوته از هر گدان برداشت و میانگین آن به‌عنوان عملکرد تک بوته هر گلدان منظور گردید. میزان پرولین برگ بر طبق روش بتز و همکاران (Bates *et al*. 1973) مشخص شد. جهت ارزیابی آنزیم کاتالاز و بیومارکر تخریبی مالون‌دی‌آلدئید برگ‌ها از روش کامک و هورست (Cakmak and Horst 1991) استفاده شد. نتایج هر کدام از تیمارها توسط نرم افزاری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت و مقایسه میانگین هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد

جدول ۱: خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک.

Table 1: Soil physicochemical properties.

خصوصیات خاک Soil properties	روی Zinc (ppm)	آهن Iron (ppm)	فسفر Phosphorus (mg.kg)	پتاسیم Potassium (mg.kg)	کلسیم Calcium (mg.l)	نیتروژن Nitrogen (٪)	شن Sand (٪)	سیلت Silt (٪)	رس Clay (٪)	اسیدیته Acidity
نتایج Results	0.5	2.9	0.14	265.1	11	0.28	11	43.7	44.3	7.2

منبع: گزارش آزمایشگاه آب وخاک (۱۳۹۶)، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران

Source: Soil and Water Laboratory Report (1396), Research, Education Center, Agriculture and Natural Resources of Tehran.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تأثیرات ساده آرسنیک و محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید نیز بر عملکرد دانه در سطح احتمال پنج درصد (P< ۰/۰۵) معنی‌دار شد. اثرات متقابل این دو عامل بر عملکرد دانه معنی‌دار نبود (جدول دو). بیش‌ترین و کمترین عملکرد دانه در بین سطوح آرسنیک در تیمارهای شاهد و کاربرد ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۰۴ و ۰/۷۸ گرم در بوته به‌دست آمد (جدول سه). همچنین بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمارهای سدیم نیتروپروساید نیز در کاربرد ۱۰۰ میکرومولار (با میانگین ۱/۰۱ گرم در بوته) حاصل شد و کمترین آن نیز مربوط به تیمار شاهد (عدم کاربرد) بود (جدول چهار). 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). در واقع آرسنیک در غلظت‌های بالا با گروه‌های تیولی پروتئین‌ها واکنش داده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها (Jain and Gadre., 2004) القای تنش اکسیداتیو شود (Singh *et al*., 2009) گونه‌های فعال اکسیژن با پراکسیداسیون لیپیدهای غشای و بالارفتن سطوح مالون-دی‌آلدئید، باعث کاهش عملکرد می‌شود (Gunes *et al*., 2009). سدیم نیتروپروساید یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است (Wieczorek *et al*., 2006). نیتریک اکسید در تحریک جوانه‌زنی دانه، تقسیم سلول، افزایش میزان

کلروفیل و بسیاری از اعمال دیگر سلول دخالت دارد و از طریق واکنش با گونه‌های اکسیژن فعال، آسیب ناشی از آنها را کاهش می‌دهد (Beligni and Lamattina, 1999).
تأثیر بهبود بخش کاربرد سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش‌های مختلف در گیاهان گندم (Lei *et al*., 2007)، نخود فرنگی (Tian and Lei., 2007)، برنج (Farooq *et al*., 2009) و همچنین در گیاه نخود تحت تنش فلزات سنگین (Kumari *et al*.,2010) مشاهده شد. تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده از سدیم نیتروپروساید موجب توسعه رشد گیاه در شرایط تنش فلزات سنگین شده و کاهش میزان فلزات سنگین موجود در قسمت‌های مختلف گیاه می‌گردد (Kumari *et al*., 2010). سدیم نیتروپروساید بسته‌شدن روزنه را تحریک و سلول‌ها را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند.
سدیم نیتروپروساید، اثرات تنش را از طریق کاهش نفوذ-پذیری غشای و نشت الکترولیت‌ها و همچنین میزان H_2O_2 موجود در برگ را کاهش می‌دهد (Neil *et al*, 2008). بهبود در رشد و عملکرد گلرنگ می‌تواند ناشی از حفظ محتوای رطوبت نسبی برگ و کاهش محتوای پراکسید هیدروژن تولید شده (Sheokand *et al*., 2010) و بهبود سیستم آنزیمی گیاه در اثر کاربرد سدیم نیتروپروساید باشد (Tian and Lei., 2007).

وزن هزار دانه

وزن هزار دانه به‌مدت زمان تشکیل دانه و ظرفیت حمل مواد فتوسنتزی به دانه، اندازه و مدت فعالیت سیستم تثبیت کننده کربن و نیتروژن بستگی دارد (اویسی و همکاران، ۱۳۸۹). داده‌های جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده و متقابل آرسنیک و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری بر وزن هزار دانه گلرنگ در سطح یک درصد (P< ۰/۰۱) داشت (جدول دو). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیش‌ترین وزن هزار دانه در تیمار کاربرد ۱۰۰ میکرومولار + عدم کاربرد آرسنیک با میانگین ۳۶ گرم حاصل شد و کمترین آن نیز مربوط به تیمار عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید + کاربرد ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آرسنیک با (میانگین ۱۹ گرم) بود (جدول پنج). گزارش شده است نقش سدیم نیتروپروساید در کاهش اثرات تنش اکسیداتیو مربوط به توانایی در واکنش با رادیکال‌های لیپید آلکوکسیل (LO) و لیپید پراکسیل (LOO) و توقف زنجیره پراکسیداسیون است (Wendehenne *et al*., 2001 & Lei *et al*., 2007). کاربرد سدیم نیتروپروساید از طریق کاهش دادن تعداد دانه پوک سبب افزایش وزن هزار دانه می‌گردد (عرب و همکاران، ۱۳۹۵). در گلرنگ از بین اجزای عملکرد، وزن هزار دانه از بقیه مهم‌تر است زیرا بسیاری از عوامل تنش‌زای محیطی که در دوره پر شدن دانه‌ها تظاهر می-کند، با ایجاد پوکی دانه به‌رغم اندازه معمول آنها موجب سبک شدن دانه‌ها و کاهش عملکرد می‌گردد (Zope *et al*., 1998). همچنین مطالعات نشان می‌دهد سدیم نیتروپروساید با جلوگیری از تخریب کلروفیل پیری برگ‌ها را به تأخیر می‌اندازد (Tu *et al*., 2003). از این رو سدیم نیتروپروساید ممکن است با طولانی کردن دوره مؤثر پر شدن دانه‌ها، افزایش وزن هزار دانه در شرایط تنش شده باشد.

آنزیم کاتالاز

براساس نتایج جدول تجزیه وارانس اثرات ساده و متقابل آرسنیک و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند و اختلافات به‌وجود آمده در سطح احتمال یک درصد (P< ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول دو). نتایج مقاسیه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید + کاربرد ۹۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک با میانگین ۲۲/۱۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه حاصل شد و کمترین آن نیز مربوط به تیمار کاربرد ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید + عدم کاربرد آرسنیک با (میانگین ۱۲/۳۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود (جدول پنج).
در شرایط تنش‌های محیطی مثل فلزات سنگین، فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و محتوای بالای آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی برای تحمل‌گیاه به تنش بسیار مهم است. همچنین در گیاهان ذرت و ماش تحت تیمار آرسنات و آرسنیت، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد (Duquesnoy *et al*., 2010 & اویسی و همکاران، ۱۳۸۹). افزایش فعالیت کاتالاز در بوته برنج تیمار شده با شبه فلز آرسنات نیز گزارش گردید (Singh *et al*., 2009). به‌نظر می‌رسد افزایش در فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت برای جبران افزایش H_2O_2 و تنش

اکسیداتیو ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در اثر سمیت آرسنیک رخ داده و میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، گیاهان بیشتر بوده، بنابراین در گیاهان در معرض آرسنیک، تنش اکسیداتیو رخ داده است. در این شرایط، تیمار سدیم نیتروپروساید موجب کاهش اثرات تنش و در نتیجه کاهش فعالیت کاتالاز در شرایط تنش شد. گزارش شده در گیاه گوجه فرنگی، سدیم نیتروپروساید باعث کاهش فعالیت کاتالاز تحت تنش شده است (Nasibi *et al*., 2011). سدیم نیتروپروساید علاوه بر تاثیر مستقیم بر نابودی رادیکال‌های آزاد، به‌طور غیرمستقیم می‌تواند با تقویت سیستم آنتی اکسیدانت گیاه به‌خصوص تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت موجب کاهش غلظت رادیکال آزاد و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه شود (Panda *et al*., 2011).

بیومارکر مالون‌دی‌آلدئید

بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات اصلی سطوح مختلف تیمارهای آرسنیک و سدیم نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد (P< ۰/۰۱) بر بیومارکر تخریب مالون‌دی‌آلدئید داشت (جدول دو). میانگین اثرات متقابل نشان داد بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید از تیمار عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید + کاربرد ۹۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک با میانگین ۰/۴۲۳ میکرومول بر گرم وزن تر برگ حاصل شد و کمترین میزان از کاربرد ۱۰۰ میکرومولار + عدم کاربرد آرسنیک با (میانگین ۰/۱۶۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) بود. غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار با یکدیگر اختلاف نداشتند. افزایش مالون‌دی‌آلدئید می‌تواند به دلیل افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در نتیجه تنش اکسیداتیو باشد که در اثر کاربرد آرسنیک ایجاد گردیده است (جدول پنج).

مطالعات نشان داد تجمع مالون‌دی‌آلدئید در بافت‌های گیاهی در اثر تنش فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Mishra and Chouhouri., 2009). هنگامی که گیاه در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرد، انواع گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌شوند. رادیکال‌های آزاد، سوخت و ساز سلولی را از طریق پراکسیداسیدن لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک برهم می‌زنند. پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تجزیه و تخریب ترکیبات ساختاری می‌گردد (Lester and Stein., 1993).

ماکرومولکول‌های لیپیدی، به‌ویژه لیپیدهای غیراشباع نسبت به اکسیداسیون توسط انواع اکسیژن فعال حساس هستند، بنابراین حضور سطوح افزایش یافته‌ی مالون‌دی آلدئید به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدی، معرف تنش شدید اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Behnamnia *et al*., 2009). القای تنش اکسیداتیو و افزایش مالون دی‌آلدئید در اثر تیمار آرسنیک در گیاهان ذرت (Stoeva *et al*., 2004) و لوبیا (Vazquez *et al*., 2008) گزارش شده است. برخی از پژوهشگران بر این عقیده هستندکه آرسنیک با اختلال در سوخت و ساز فسفر و کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های حیاتی باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه می‌شود (Singh *et al*., 2009). در مورد نقش سدیم نیتروپروساید در گیاه ذرت مشاهده شده است که پیش‌تیمار گیاه با سدیم نیتروپروساید، تنش فلزات سنگین را تخفیف داده و موجب کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید گردید (Sun *et al*., 2007). همچنین در گیاه گوجه‌فرنگی مشاهده گردید که پیش‌تیمار سدیم نیتروپروساید مقدار پراکسید هیدروژن را در برگ‌های تحت تنش کاهش داده است (Nasibi *et al*., 2011).

پرولین

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی تیمار-های آرسنیک و سدیم نیتروپروساید بر محتوای پرولین در سطح احتمال یک درصد (P< ۰/۰۱) تأثیر معنی‌داری داشت. اما اثرات متقابل تیمارها بر محتوای پرولین معنی-دار نبود (جدول دو). مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی نشان داد که با افزایش سطح کاربرد آرسنیک محتوای پرولین افزایش یافت، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان پرولین در بین تیمارهای آرسنیک از تیمارهای ۹۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک و شاهد به‌ترتیب با میانگین ۶۵۳ و ۳۷۷ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بود (جدول سه). بیش‌ترین میزان پرولین در بین سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید از تیمار عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید (محلول‌پاشی با آب خالص) با میانگین ۵۶۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ حاصل شد و کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب کاهش میزان پرولین شد (جدول

چهار). یکی از راه‌های مقابله با تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی سنتز ترکیبات سازگار و محافظ اسمزی است 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., 2009).

تجمع پرولین در لوبیا تحت تأثیر کادمیم نیز گزارش شده است (Mench *et al*., 2006). در مطالعه روی گیاه خیار مشاهده شد که میزان پرولین در ریشه این گیاه تحت تنش و شرایط کاربرد سدیم نیتروپروساید کاهش می‌یابد (Azevedo and Lea, 2005). همچنین در گیاه گلرنگ که با سدیم نیتروپروساید پیش‌تیمار شده، تحت تنش اسمزی مقدار پرولین کاهش یافت (عرب و همکاران، ۱۳۹۵).

آرسنیک دانه

اثرات اصلی و متقابل تیمارهای آرسنیک و سدیم نیتروپروساید بر محتوای آرسنیک دانه در سطح احتمال یک درصد (P< ۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول دو). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیش‌ترین میزان محتوای آرسنیک دانه از تیمار عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید + کاربرد ۹۰ میلی‌گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک با میانگین ۰/۴۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم حاصل شد. همانطور که انتظار می‌رفت با افزایش سطح آرسنیک محتوای آرسنیک دانه نیز افزایش یافت و کاربرد سدیم نیتروپروساید تا حدودی سبب کاهش محتوای آرسنیک دانه گردید (جدول پنج). انتقال آرسنیک از ریشه به بخش هوایی و دانه در گیاهان زراعی از اهمیت ویژه‌ایی برخودار است. مناطقی که دارای آلودگی آرسنیک خصوصاً در منابع آب هستند ممکن است دارای سطحی از آرسنیک در محصولات کشاورزی خود باشند که برای مصرف انسان خطرناک باشد (Bhattacharya *et al*., 2007). ضریب انتقال آرسنیک از خاک به بخش هوایی در گیاهان مختلف تفاوت دارد. محققان طی بررسی جذب آرسنیک در گوجه فرنگی متوجه شدند که با افزایش سطح آرسنیک، میزان آرسنیک نیز افزایش می‌یابد، البته در غلظت‌های بسیار بالا ممکن است به دلیل بروز آسیب‌های ناشی از تجمع زیاد آرسنیک و آسیب رسیدن به ریشه توانایی گیاه در جذب کاهش یابد (Carbonell-Barrachina *et al*., 2005). در آزمایشی که در جهت اصلاح خاک‌های آلوده به آرسنیک انجام شد دامنه تغییرات آرسنیک در اندام‌های مختلف گیاه لوبیا بین ۰/۱۸ تا ۱/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد که با مقادیربه‌دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد (Mench *et al*., 2006).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد تیمار آرسنیک باعث ایجاد سمیت در گیاه گلرنگ شد و با افزایش سطح آرسنیک این سمیت نیز افزایش یافت و اثرات نامطلوب آن نیز بر صفات مختلف افزایش داشت، در حالی‌که کاربرد سدیم نیتروپروساید باعث تخفیف میزان تنش در گیاهان تحت سمیت آرسنیک گردید، همچنین در بیشتر صفات مورد بررسی غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. بررسی‌ها نشان داد که گیاه با فعال‌کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در جهت کاهش محتوای گونه‌های فعال اکسیژن و تغییر سوخت و ساز برخی ترکیبات سلولی، آستانه تحمل خود را در برابر آرسنیک افزایش می‌دهد.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات عملکرد دانه، وزن هزار دانه، آنزیم کاتالاز، مالون دی آلدئید، پرولین و آرسنیک دانه

Table 2: Analysis of variance for grain yield, 1000 grain weight, catalase, MDA, proline in term and grain arsenic

		میانگین مربعات M.S					
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد دانه Grain yield	وزن هزار دانه 1000 G.W	آنزیم کالاتاز Catalase	مالون دی آلدئید MDA	پرولین Proline	آرسنیک دانه Grain arsenic
آرسنیک Arsenic	3	17.21*	116.1**	14.11**	0.121**	131095**	0.0221*
سدیم نیتروپروساید nitroprusside Sodium	2	10.02*	154.6**	9.59**	0.0068**	15958**	0.0099*
اثر متقابلA*B	6	0.65^{ns}	20.61**	4.83**	0.0014**	1480^{ns}	0.0018**
اشتباه آزمایش Error experimental	24	0.41	2.51	0.98	0.0002	1463.2	0.0002
ضریب تغییرات (٪) CV		13.10	10.51	5.74	6.23	7.07	3.85

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

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

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی آرسنیک بر صفات مورد آزمایش.

Table 3. Comparison of Simple Effect of Arsenic on traits of experiment.

تیمار آرسنیک Treatment (Arsenic)	عملکرد دانه Grain yield (g.plant)	وزن هزار دانه 1000 G.W (gr)	کاتالاز Catalase (mg protein.min)	مالون دی آلدئید MDA (µmol.g FW)	پرولین Proline (µmol.g FW)	آرسنیک دانه Arsenic of grain (mg.kg)
شاهد (عدم کاربرد) Control (0 mg.kg)	1.04^{a}	33^{a}	15.65^{c}	0.399^{a}	377^{d}	0^{d}
۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم 30 (mg.kg)	0.96^{b}	30^{b}	16.96^{b}	0.379^{b}	527^{c}	0.380^{c}
۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم 60 (mg.kg)	0.84^{c}	28^{c}	18.05^{a}	0.368^{b}	605^{b}	0.399^{b}
۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم 90 (mg.kg)	0.78^{c}	24^{d}	18.45^{a}	0.313^{c}	653^{a}	0.436^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

The mean of the same letters based on the Duncan test at 5% is not significant**.** .

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات ساده سدیم نیتروپروساید بر صفات مورد آزمایش.

Table 4- Comparison of Simple Effects of SNP on traits of experiment..

تیمار (سدیم نیتروپروساید) Treatment (SNP)	عملکرد دانه Grain yield (g.plant)	وزن هزار دانه 1000 G.W (gr)	آنزیم کاتالاز Catalase (mg protein.min)	مالون دی آلدئید MDA (µmol.g FW)	پرولین Proline (µmol.g FW)	آرسنیک دانه Arsenic of grain (mg.kg)
شاهد (عدم کاربرد) Control (0 µM)	25^{c}	0.83^{b}	18.30^{a}	0.349^{b}	565^{a}	0.365^{b}
۵۰ میکرومولار 50 (µM)	27^{b}	0.88^{b}	16.89^{b}	0.352^{b}	557^{a}	0.367^{b}
۱۰۰ میکرومولار 100 (µM)	32^{a}	1.01^{a}	16.64^{b}	0.392^{a}	498^{b}	0.416^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

The mean of the same letters based on the Duncan test at 5% is not significant**.**

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل آرسنیک و سدیم نیتروپروساید بر صفات مورد آزمایش.

Table 5: Comparison of the Effects of Interaction Arsenic and SNP on traits of experiment.

Treatment	تیمار	عملکرد دانه Grain yield (g.plant)	وزن هزار دانه 1000 G.W (gr)	آنزیم کاتالاز Catalase (mg protein.min)	مالون دی آلدئید Malondialdehyde (mg protein.min)	پرولین Proline (µmol.g FW)	آرسنیک دانه Arsenic of grain (mg/kg)
Arsenic 0 × SNP 0	شاهد × شاهد	0.993^{abc}	31^{bc}	13.18^{ef}	0.363^{cd}	388^{g}	0
Arsenic 30 × SNP0	آرسنیک ۳۰ × عدم کاربرد	0.913^{c}	27^{de}	17.87^{cd}	0.384^{bc}	549^{e}	0.217^{d}
Arsenic 60 × SNP 0	آرسنیک ۶۰ × عدم کاربرد	0.763^{de}	25^{e}	20.59^{b}	0.391^{bc}	622^{bcd}	0.317^{b}
Arsenic 90 mg/kg × SNP 0	آرسنیک ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم × عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید	0.666^{f}	20^{g}	22.19^{a}	0.423^{a}	703^{a}	0.467^{a}
Arsenic 0 × SNP 50 (µM)	عدم کاربرد آرسنیک × ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	1.087^{a}	34^{ab}	12.51^{ef}	0.418^{e}	378^{g}	0
Arsenic 30 mg/kg × SNP 50 (µM)	آرسنیک ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	0.973^{bc}	30^{cd}	16.46^{de}	0.350^{de}	553^{e}	0.122^{e}
Arsenic 60 mg/kg × SNP 50 (µM)	آرسنیک ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	0.784^{d}	26^{e}	17.93^{d}	0.370^{bcd}	625^{bc}	0.251^{d}
Arsenic 90 mg/kg × SNP 50 (µM)	آرسنیک ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	0.687^{ef}	21^{ef}	17.76^{d}	0.398^{ab}	673^{ab}	0.329^{b}
Arsenic 0 × SNP 100 (µM)	عدم کاربرد آرسنیک × ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	1.044^{ab}	34^{a}	12.37^{f}	0.161^{h}	365^{g}	0
Arsenic 30 mg/kg × SNP 100 (µM)	آرسنیک ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	1.007^{abc}	33^{ab}	15.31^{e}	0.221^{g}	479^{f}	0.111^{e}
Arsenic 60 mg/kg × SNP 100 (µM)	آرسنیک ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	0.997^{abc}	32^{ab}	16.66^{cd}	0.271^{h}	567^{de}	0.233^{d}
Arsenic 90 mg/kg × SNP 100 (µM)	آرسنیک ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم × ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید	0.996^{abc}	31^{abc}	16.81^{cd}	0.364^{cd}	584^{cde}	0.313^{b}

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

The mean of the same letters based on the Duncan test at 5% is not significant**.**

منابع مورد استفاده **References**

اویسی، م.، میرهادی، م.ج.، مدنی، ح.، نورمحمدی، ق. و ضرغامی، ر. ۱۳۸۹. تاثیر محدودیت منبع بر عملکرد و شاخص‌های رشد ذرت دانه‌ای رقم ۷۰۴ در شرایط تنش خشکی. یافته‌های نوین کشاورزی، ۵(۲): ص ۱۲۴-۱۱۳.

عرب، ص.، برادران فیروزآبادی، م.، اصغری، ح.ر.، غلامی، ا. و رحیمی، م. ۱۳۹۵ . تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و سدیم نیتروپروساید بر عملکرد دانه، روغن و برخی صفات زراعی گلرنگ بهاره در شرایط تنش کم آبی. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۹ (۱): ص ۲۵-۱۳.

یداللهی، پ.م.، اصغری‌پور، ا.، باقری، ب.، جباری، و. س. و شیخ پور، پ. ۱۳۹۲. بررسی اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آرسنیک بر خصوصیات کمی گیاه دارویی کارلا. مجله پژوهش‌های به زراعی. ۵(۳): ۲۱۵-۲۲۵.

Azevedo, R.A., and Lea, P,J. 2005. Toxic metals in plants. Braz. J. Plant Physiol. 17:111-121.

Behnamnia, M., Manouchehri Kalantari, K., and Ziaie, J. 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 Lamattina, L. 2000. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. Planta. 208: 337-344.

Bhattacharya, P., Welch, A.H., Stollenwerk, K.G., McLaughlin, M.J., Bundschuh, J., and Panaullah, G. 2007. Arsenic in the environment: biology and chemistry. Sci. Total Environ. 379:109–120

Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teave, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Cakmak, I., and Horst, W. 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean. Plant Physiol. 83: 463-468.

Carbonell-Barrachina, A.A., Aarabi, M.A., Delaune, R.D., Gambrell, W.H., and Patrick, J. 2005. Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. Science Total Environment. 217: 189-199.

Duquesnoy, I., Champeau, G.M., Evray, G., Ledoigt, G., and Piquet-Pissaloux, A. 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.

Farooq, M,, Basra, S., Wahid, A., and Rahman, H. 2009. Exogenously applied nitric oxide enhance the drought tolerance in fine grain aromatic Rice (*Oryza sativa* L.). Agronomy and Science. 195: 254-261.

Gunes, A., Pilbeam, D.J., and Inal, A. 2009. Effect of arsenic–phosphorus interaction on arsenic-induced oxidative stress in chickpea plants. Plant Soil. 314:211–220.

Hsu, Y.T., and Kao, C.H. 2004. Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. Plant Growth Regulators. 42: 227-238.

Kumari, A., Sheokand, A., and Kumari, S. 2010. Nitric oxide induced alleviation of toxic effects of short term and long term Cd stress on growth, oxidative metabolism and Cd accumulation in Chickpea. Brazilian society of Plant physiology. 22(4): 271-284.

Khoshgoftar, A., Karimian, H., Kalbasi, N., VanDer, M., Parker, S. 2004. Salinity and zinc application effects on phyto availability of cadmium and zinc. Soil Science Society of America Journal. 68(6): 85-99.

Lester, G.E., and Stein, F. 1993. Plasma membrane physicochemical changes during maturation and postharvest storage of muskmelon fruit. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 118: 223-227.

Lei, Y., Yin, C., Ren, J., and Li, C. 2007. Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. Biologia Plantarum. 51(2): 386-390.

Liu, Q., Hu, C., Tan, Q., Sun, X., Su, J., and Liang, Y. 2008. Effects of as on as uptake, speciation and nutrient by winter wheat under arsenate co contamination. Ecotoxicology Environmental Safety. 68: 505-313.

Mench, M., Vangronsveld, J., Beckx, C., and Ruttens, A. 2006. Progress in assisted natural remediation of an arsenic contaminated agricultural soil. Environmental Pollution, 44:51- 61.

Mishra, S., and Dubey, R.S. 2009. Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenicexposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant. Plant Physiology. 163:927-936.

Morel, F.M.M. 2008. The co-evolution of phytoplankton and trace element cycle in the oceans. Geobiology. 6: 318-24.

Nasibi, F., Yaghoobi, M.M., and Kalantari, Kh. 2011. Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant under water stress. Plant Interactions. 6: 291-296.

Neill, S.J., Desikan, R., and Hancock, J.T. 2008. Nitric oxide signaling in plants. New Phytologist. 159: 11–35.

Panda, P., Nath, Sh., Chanu, T., Sharma, G.D., and Panda, S.K. 2011. Cadmium stress induced oxidative stress and role of nitric oxide in rice (*Oryza sativa* L.). Acta Physiologiae Plantarum. 33: 1737-1747.

Sheokand, S., Bhankar, V., and Sawhney, V. 2010. Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants. Brazilian society of plant Physiology. 22(2): 81-90.

Singh, H.P., Kaur, S., Batish, D.R., Sharma, V.P., and Sharma, N. 2009. Nitric oxide alleviates arsenic toxicity by reducing oxidative damage in the roots of rice. Brazilian society of plant Physiology. 16: 179-189.

Sun, B., Yan, J., Chen, K., Song, L., Chen, F., and Zhang, L. 2007. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.). Plant Physiology. 164: 536-543.

Stoeva, N., Berova, M., and Zlatez. Z. 2004. Physiological response of maize to arsenic contamination. Planta. 47(3): 449-452.

Tian, X.R., and Lei, Y.B. 2007. Physiological responses of wheat seedling to drought and UV-B radiation. Effect of exogenous sodium nitropreside application. Plant Physiology. 54(5): 763-769.

Tu, J., Shen, W.B., and Xu, L. 2003. Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. Acta Botanica Sinica Journal, 45: 1055-1062.

Vazquez, S., Esteban, E., and Carpena. R.O. 2008. Evolution of arsenate toxicity in modulated white lupine in a long-term culture. Journal of Agricultural and Food Science. 56(18): 8580-8587.

Verbruggen, N., and Hermans, C. 2009. Mechanisms to cope with arsenic or cadmium excess in plants. Curr. Opin. Plant Biol. 12(3): 364–372.

Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D., and Durner, J. 2001. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. Trends in Plant Sciences 6: 77-183.

Zope, R.E., Katule, B.K., Ghorpade, D.S. 1998. Seed filling duration and yield in safflower. Sesame and Safflower Newsletter. Institute of Sustainable Agriculture. 4: 39-42.