تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۹
۳۱۲-۲۹۷
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.1841.1435

مقاله پژوهشی

تأثیر سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت سمیت آرسنیک

لیلا فهمیده[1*]، علی‌اصغر قادری[2]، ایوب مزارعی[3]، امیر رجبی[3]

۱. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح گیاهان باغی دانشگاه زابل
۳. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۰۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۱

چکیده

تنش ناشی از فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین انواع تنش‌ها در اکوسیستم خاک است که باعث کاهش تولید محصول در واحد سطح می‌گردد. امروزه کاربرد ترکیبات فنولی و تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند اسید سالیسیلیک به‌منظور کاهش آثار منفی ناشی تنش‌های مختلف مطرح است. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر سمیت آرسنیک در گیاه ریحان پس از افزودن آرسنیک به خاک بود. این پژوهش در سال ۱۳۹۵ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش آرسنیک در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۰، ۴۵، ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سه سطح صفر (شاهد)، ۱ و ۲ میلی‌مولار بود. نتایج نشان داد که افزودن آرسنیک به‌طور معنی‌داری وزن تر و خشک، سطح برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی را کاهش و غلظت کربوهیدرات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد. درحالی‌که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر تمام صفات تأثیر معنی‌داری داشت، به‌طوری‌که غلظت ۲ میلی‌مولار باعث افزایش وزن تر و خشک، سطح برگ، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید و کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. در این بررسی اثر متقابل بین اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار بود؛ و اسید سالیسیلیک نقش تعدیل‌کننده و کاهنده اثر منفی سمیت آرسنیک را بر این خصوصیات داشت؛ بنابراین با استناد به یافته‌های مطالعه حاضر و همچنین انجام تحقیقات تکمیلی می‌توان محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک را جهت بهبود رشد و کاهش سمیت آرسنیک در گیاه دارویی ریحان تحت تنش آرسنیک پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: **اسید سالیسیلیک، تنش عناصر سنگین، گیاه دارویی، محلول‌پاشی.**

مقدمه

در چند دهه اخیر آلودگی محیط‌زیست با انواع ترکیبات شیمیایی آلی و معدنی درنتیجه توسعه سریع صنایع شیمیایی و ورود انواع ترکیبات سمی و خطرناک به محیط به یک تهدید جدی تبدیل شده است (Yadallahi et al., 2013). برخی از این فلزات همانند روی، نیکل و مس چون بخشی از ترکیبات آلی همانند رنگیزه‌ها و آنزیم‌ها را در گیاهان تشکیل می‌دهند، جزء عناصر ضروری برای رشد و نمو به شمار می‌روند و فقط در غلظت‌های بالاتر از نیاز فیزیولوژیکی اثرات سمی دارند و در مقابل برخی دیگر از این دسته از عناصر همانند کادمیوم، آرسنیک و سرب که جزء فلزات غیرضروری محسوب می‌شوند، حتی در غلظت‌های پایین نیز اثرات سمی بر گیاهان دارند. به همین دلیل، فلزات سنگین به‌عنوان یکی از عوامل تنش‌زا برای گیاهان به شمار می‌روند (Lin et al., 2012).

* نگارنده پاسخگو: لیلا فهمیده. پست الکترونیک: l.fahmideh@uoz.ac.ir

وجود مقادیر سمی فلزات سنگین در محیط‌زیست گیاهان باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیک شده و می‌تواند موجب کاهش توان رشد گیاه و در حالت شدیدتر باعث از بین رفتن گیاه شود. گیاهان حساس در چنین شرایطی آسیب‌دیده و از بین می‌روند درحالی‌که گیاهان مقاوم در این شرایط به رشد و تولیدمثل خود ادامه می‌دهند (Mahdavian et al., 2015). آرسنیک عنصری سمی برای گیاهان و جانوران است که از طریق منابعی مانند سموم، کودها، مواد نگه‌دارنده چوب، سوختن زغال‌سنگ، معادن آرسنیک و طلا، احتراق سوخت‌های فسیلی و فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی در محیط انتشار می‌یابد (Yadallahi et al., 2013). سطح مجاز 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 گیاهان در معرض آرسنیک موجب القای تنش محسوس در گیاه که شامل مهار سریع رشد، به‌هم‌ریختگی فرآیندهای فیزیولوژیکی و درنهایت مرگ گیاه می‌شود (Asadi-Karam et al., 2017) آرسنات به‌عنوان ترکیب مشابه با فسفر از طریق ناقلین فسفات وارد گیاه شده و بنابراین جذب فسفر توسط گیاه را کاهش می‌دهد درحالی‌که آرسنیت از طریق آکوآگلیسروپورین‌ها وارد ریشه گیاهان می‌گردد. آرسنیک سیستم جذب فسفات را با میل ترکیبی بالا در غشای سلولی متوقف کرده و باعث اختلال در جریان انرژی سلول‌ها می‌شود (Shri et al., 2009). درعین‌حال نظر اکثر محققین بر این است که آرسنیک با اثر تقابل با گروه‌های سولفیدریل در ساختار ماکروملکول‌های زیستی و جابجایی گروه‌های فسفات در ساختار مولکول ATP موجب اختلال در بیشتر فرآیندهای متابولیکی در گیاهان می‌شود (Singh et al., 2009). از طرفی برخی نیز بر این عقیده‌اند که آرسنیک با اختلال در متابولیسم فسفر و تقلیل فعالیت برخی آنزیم‌های حیاتی موجب افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ROS در گیاهان می‌شود.

ROS می‌تواند به‌طور مستقیم سبب تخریب اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و تحریک پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء گردد. تحریک آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، مکانیسم دفاعی گیاهان برای خاموش کردن ROS است. بر اساس گزارش‌های به‌دست‌آمده، آرسنیک باعث کاهش میزان فتوسنتز، تعرق گیاه، مهار جوانه‌زنی، کاهش رشد، تخریب غشای کلروپلاستی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردد (Mohammadi et al., 2015). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که واکنش رشدی گیاهان به غلظت‌های مختلف آرسنیک متفاوت است. به‌عنوان‌مثال در تحقیقی که روی لوبیا انجام شد کاهش وزن اندام‌های هوایی از غلظت ۲/۵ میکرومولار آرسنیک آغاز شد (Yadallahi et al., 2013).

اسید سالیسیلیک (SA) یا ارتو هیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوطه نیز به یک گروه از ترکیبات فنلی تعلق دارند و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده گیاهی نقش محوری در تنظیم مراحل مختلف رشد و تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (Gheysari et al., 2015). تأثیرات متابولیکی سالیسیلیک اسید و ترکیبات وابسته به آن با توجه به نوع گیاه، مقدار و نحوه کاربرد سالیسیلیک اسید تغییر می‌کند و می‌تواند مقاومت گیاه را در تنش‌های غیرزنده ازجمله فلزات سنگین، خشکی، گرما، شوری و غیره افزایش دهد (Padash et al., 2016). برای مثال کاربرد اسید سالیسیلیک تخریب غشای ایجادشده توسط سرب در گیاه برنج (Mishra and choudhuri., 1999)، سمیت منگنز در گیاه خیار (Shi and zhu., 2008)، تنش اکسیداتیو القاشده توسط جیوه در گیاه یونجه (Zhou et al., 2009)، سمیت عنصر سنگین کادمیوم در گیاهان جو و ذرت (Metwally et al., 2003) را بهبود بخشیده است.

جنس Ocimun متعلق به تیره نعناییان است که اکوتیپ های آن تنوع مورفولوژیک زیادی دارند از میان گونه‌های این جنس گونه ریحان *Ocimun basilicum* با نام علمی اهمیت اقتصادی فراوانی دارد و به‌عنوان یک گیاه دارویی ادویه‌ای و سبزی تازه مصرف می‌شود (Padash et al., 2016). ازاین‌رو این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تنش آرسنیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی اثر تنش آرسنیک و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان فعالیت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه زابل اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح آرسنیک: صفر (شاهد)، ۱۰، ۴۵ و ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و سه سطح محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (صفر، ۱ و ۲ میلی مولار) بودند. آرسنیک قبل از کاشت با خاک مخلوط شده و به‌منظور آغشته شدن خاک با آرسنیک دو هفته در نایلون‌های مخصوص نگهداری شد. پس از پر شدن گلدان‌ها با خاک مخلوط شده با آرسنیک، کاشت انجام شد. در هر گلدان ۲۰ عدد بذر کاشته شد و در مرحله ۴ برگی عمل تنک کردن گلدان‌ها انجام و درنهایت تعداد ۳ بوته درون هر گلدان باقی ماند. پس از استقرار کامل بوته‌ها و ۳۵ روز بعد از کاشت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک اعمال شد. در مدت رشد، گلدان‌ها ۳ مرتبه در هفته با ۷۵ میلی‌لیتر محلول غذایی لانگ– اشتون با رقت ۲:۱ و اسیدیته ۶/۵ آبیاری شدند. خصوصیات خاک موردمطالعه در جدول (۱) ارائه شده است:

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of soils tested.

بافت	شن	رس	لای	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	اسیدیته
Texture	**Sand**	**Clay**	**Lome**	**Mn**	**Zn**	**Fe**	**K**	**P**	**N**	**pH**
لومی شنی	---------درصد(٪)--------			----------mg.kg^{-1}----------						
Sandy lome	41	28	31	2.9	3.8	2.41	12.5	9.2	3.3	7.7

اندازه‌گیری وزن‌تر اندام هوایی

برای اندازه‌گیری وزن‌تر، ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا و وزن‌تر هر یک از گیاهان با ترازوی دقیق آزمایشگاهی sartarius مدل BP211D با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری وزن خشک

پس از برداشت گیاهان و شستشوی ریشه توسط آب مقطر، اندام هوایی از ریشه جدا گردید. نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها نیز با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه

بر اساس روش (Lichtenthaler 1987)، ۰/۲ گرم از برگ-های تازه گیاه در هاون چینی ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شده و جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی از رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl. a} = (12/25\ A663.2 - 2.79\ A646.8) \quad [۱]$$

$$\text{Chl. b} = (21.21\ A646.8 - 5.1\ A663.2) \quad [۲]$$

$$\text{Chl. T} = \text{Chl. a} + \text{Chl. B} \quad [۳]$$

اندازه‌گیری کاروتنوئید

مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به‌طور جداگانه در طول‌موج ۴۷۰ برای کارتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب قرائت شد. درنهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کارتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید (Arnon, 1967).

$$\text{Carotenoides} = 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227 \quad [۴]$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

عصاره آنزیمی

در این روش ۰/۵ گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموژن شده و سپس به آن ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سرد (pH :۷/۵) محتوی EDTA ۰/۵ میلی‌مولار اضافه شد. نمونه‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای

۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند (Sairam et al., 2002).

سنجش آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (pH=7)، ۰/۱۵ میکرولیتر EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرولیتر آب مقطر را در تیوپ ریخته و ۳۸۲/۵ میکرولیتر آب‌اکسیژنه به آن اضافه شد (۳۸۲/۵ میکرولیتر آب‌اکسیژنه را در ۲/۵ سی‌سی آب مقطر ریخته که آب‌اکسیژنه ۰/۷۵ مولار به دست آید. سپس ۳۰ میکرولیتر در مخلوط واکنش ریخته شد تا آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی مولار به دست می‌آمد) و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول‌موج ۲۴۰ نانومتر میزان جذب آن ثبت گردید و پس از سپری شدن زمان یک دقیقه دوباره میزان جذب یادداشت گردید (Beers and Sizer, 1952).

سنجش آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش هولی (Holy, 1972) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا ۲ میلی‌لیتر استات ۰/۲ مولار با pH= ۵، ۰/۲ میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه ۰/۳ درصد (۳۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه را در ۱۰ سی‌سی آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر بنزیدین ۰/۲۰ مولار محلول در متانول ۵۰ درصد، در حمام یخ مخلوط شدند، سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی برگ به این مخلوط واکنش اضافه شد و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول‌موج ۵۳۰ نانومتر میزان جذب آن قرائت گردید.

اندازه‌گیری کربوهیدرات

اندازه‌گیری کربوهیدرات با استفاده از روش کرسپی (Kerepsi et al., 1996) صورت گرفت. میزان کربوهیدرات استخراج میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری قرائت گردید. میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس میکروگرم در گرم وزن‌تر به دست آمد.

محاسبه سطح برگ (LAI)

جهت اندازه‌گیری این صفت نیز، تعداد ۳ بوته از هر گلدان به‌طور تصادفی انتخاب شد، نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و پس از جدا کردن برگ‌ها از بوته، سطح برگ توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل (AT-DELTA-TDEVICES-LTD) و کمپانی (BURWELL, CAMBRIDGE. ENGLAND) تعیین و سپس میانگین آن‌ها به‌عنوان سطح برگ یادداشت گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری

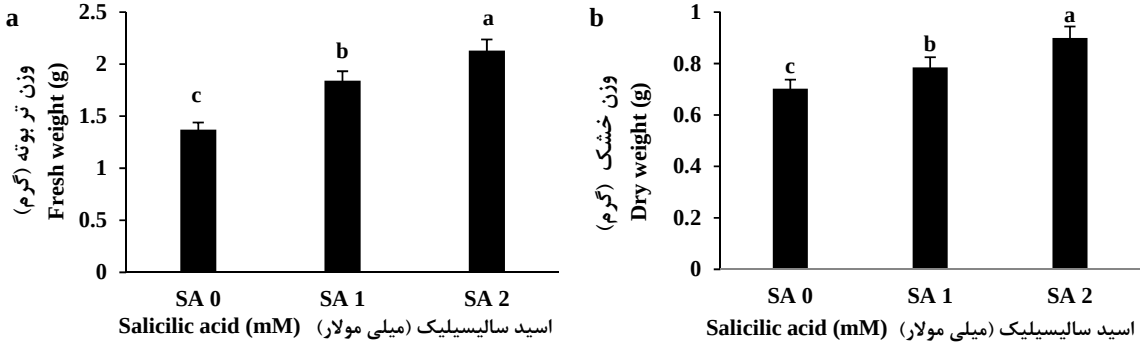
داده‌های مربوط به آزمایش‌های مختلف در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver 9.1 تجزیه‌شده و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی

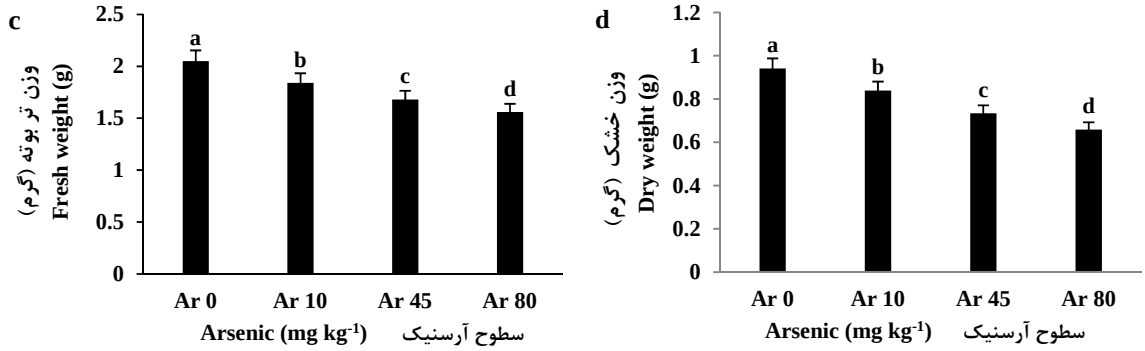
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر برخی از ویژگی‌های رشدی در این آزمایش از قبیل سطح برگ، وزن تر و خشک بوته در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل آن‌ها تأثیری بر مقدار صفات موردبررسی نداشت. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که با افزایش غلظت محلول-پاشی، بر وزن تر و خشک افزوده شد به‌طوری‌که محلول-پاشی با اسید سالیسیلیک به ترتیب باعث افزایش ۳۵ و ۲۱ درصدی وزن تر و خشک نسبت به شاهد گردید (شکل ۱) اما افزایش سطوح آرسنیک به ترتیب سبب کاهش ۲۴ و ۳۰ درصدی وزن تر و خشک بوته‌ها در مقایسه با شاهد شد (شکل ۲).

بر اساس نظر محققان کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک باعث افزایش وزن‌تر و خشک شاخساره در توت‌فرنگی (Jamali et al., 2013)، گل همیشه‌بهار (Bayat et al., 2012) و اسفناج (Eraslan et al., 2008) گردید. بر اساس نتایج این مطالعه محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک سبب افزایش ۳۵ و ۲۱ درصدی وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به شاهد شد و با نتایج مطالعه عشقی و همکاران (Eshghi et al., 2016) که بیان کردند طی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک وزن تر و خشک اندام هوایی بوته‌های توت‌فرنگی به ترتیب افزایش ۲۶ و ۲۷ درصدی نسبت به شاهد نشان داشتند همخوانی دارد.



شکل ۱. اثر سطوح اسید سالیسیلیک بر وزن تر (a) و وزن خشک (b) بوته.

Fig. 1. Effect of Salicylic Acid on the Fresh weight (a) and dry weight (b)



شکل ۲. اثر سطوح آرسنیک بر وزن تر (c) و وزن خشک (d)

Fig. 2. Effect of Arsenic on the Fresh weight (c) and dry weight (d)

ایـن افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی را می‌توان به اثر مثبت اسید سالیسیلیک بر جذب بیشتر مـواد معـدنی توسـط گیـاه (Szepesi et al., 2009; Ashghi et al., 2106) و افزایش فعالیت آنزیم کربنیک آنهیدراز و به طبع آن افزایش فتوسنتز خالص برگ نسبت داد (Fariduddin et al., 2003). در این پژوهش هم سالیسیلیک افزایش فتوسنتز را به همراه داشت که بالطبع افزایش فتوسنتز افزایش رشد و یا افزایش وزن تر و خشک را به همراه دارد. ولی جالب اینکه کاربرد توأم اسید با تنش، افزایش وزن تر و خشک را تعدیل نکرد و اثرمتقابل معنی‌دار نشد.

یکی از اثرات سوء عناصر سنگین در گیاهان، کاهش سرعت رشد، کاهش میـزان تعـرق و جـذب عناصر غذایی است. در بین عناصر سنگین، عناصری همانند کادمیوم و آرسنیک سبب تداخل در انجام فرآیندهای جذب در ریشه شده و نیز باعث کاهش هدایت روزنه‌ای در برگ‌های گیاهان می‌شـوند (Mohammadi et al., 2015). کاهش رشد و عملکرد گیاه در حضور آرسنیک توسط پژوهشگران مختلف نیز گزارش شده است (Pigna et al., 2009; Srivastava et al., 2009; Cozzolino et al., 2010).

نتایج این مطالعه نشان داد که آرسنیک سبب کاهش ۲۴ و ۳۰ درصدی وزن تر و خشک اندام هوایی شد که با نتایج پژوهشگران در گیاه تاج‌خروس (Choudhury et al., 2008؛ Cao et al., 2009)، لوبیا (Howladar, 2014)، نخود (Faiazan et al., 2011)، لوبیا چیتی (Balochi, 2016) و گلرنگ (Norani-Azad and Kafilzadeh, 2011) مطابقت دارد. آن‌ها بیان کردند که کاربرد فلزات سنگین همانند آرسنیک، نیترات نیکل، کادمیوم و مس سبب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی می‌شود.

بر اساس نظر یاداو (Yadav, 2010) فلزات سنگین با کاهش تورژسانس سلول موجبات کاهش تقسیم سلولی و مهار رشد سلول‌ها را فراهم و با تجمع در دیواره سلول، ورود به سیتوپلاسم و ایجاد اختلال در متابولیسم طبیعی سلول

منجر به کاهش رشد می‌شوند؛ بنابراین می‌توان بیان کرد که آسیب‌های ریشه‌ای ناشی از فلزات سنگین و کاهش کلروفیل ممکن است یکی از دلایل کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی باشد (Yadgari and Karimi, 2014). این کاهش رشد ریشه و میزان کلروفیل به ترتیب میزان جذب آب و یون‌های معدنی (Rashid Shomali et al., 2012) و فعالیت آنزیم‌های مؤثر در چرخه تثبیت دی‌اکسید کربن، واکنش‌های وابسته به نور و مستقل از نور و ممانعت از فعالیت آنزیم روبیسکو، تثبیت CO_2 و فتوسنتز را کاهش می‌دهند (Wang et al., 2009) که نتیجه آن کاهش بیومس گیاهان است.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس خصوصیات موردمطالعه گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر تنش آرسنیک و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک
Table 2. Analysis of variance of characters investigated in basil under Arsenic and Salicylic acid

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر Fresh weight (g)	وزن خشک Dry weight (g)	سطح برگ leaf area ($cm\ m^{-2}$)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg^{-1}fw$)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg^{-1}fw$)
سالیسیلیک اسید Salicylic acid (SA)	2	1.755**	0.117**	114.96**	0.0058**	0.0067**
آرسنیک Arsenic (Ar)	3	0.402**	0.132**	76.39**	0.0033**	0.0032**
آرسنیک × سالیسیلیک اسید Ar×SA	6	0.137ns	0.0006ns	1.66ns	0.0009**	0.0047**
خطا Error	22	0.103	0.0009	0.735	0.00005	0.000017
ضریب تغییرات CV (%)		*5.69*	*3.88*	*2.44*	*5.78*	*9.1*

جدول ۲. ادامه
Table 2. Continued

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل کل Total Chlorophyll ($mg^{-1}fw$)	کارتنوئید Carotenoid	کربوهیدرات Carbohydrate	کاتالاز Catalase ($mg^{-1}fw$)	پراکسیداز Peroxidase ($mg^{-1}fw$)
سالیسیلیک اسید Salicylic acid (SA)	2	0.0103**	205.47**	7.678**	8.30**	1.458**
آرسنیک Arsenic (Ar)	3	0.0056**	108.90**	0.124**	8.64**	1.39**
آرسنیک × سالیسیلیک اسید Ar×SA	6	0.0009**	1.96ns	0.0009ns	3.61**	7.808**
خطا Error	22	0.0005	1.801	0.054	1.285	.0015
ضریب تغییرات CV (%)		*4.39*	*2.52*	*4.47*	*2.45*	*6.87*

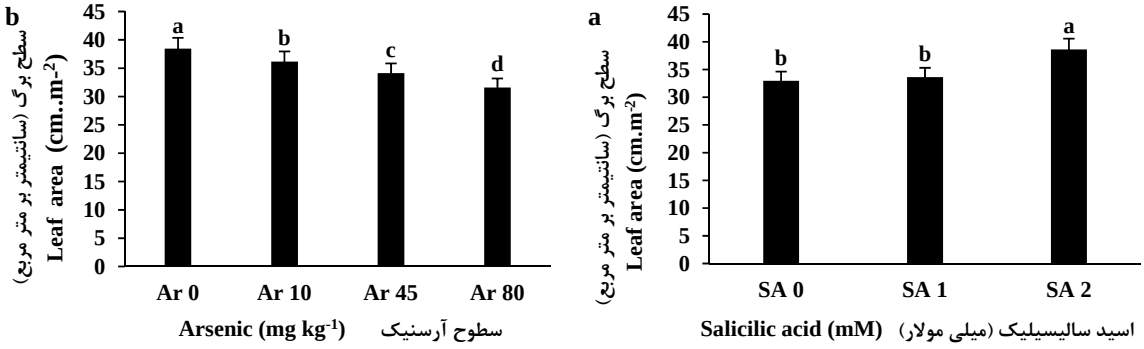
ns، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد
ns,* and ** are not significantly and significantly different in 5% and 1% respectively different

سطح برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر سطح برگ سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل آن‌ها تأثیری بر مقدار صفت موردبررسی نداشت. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده شکل ۲ مشخص نمود که با افزایش غلظت محلول‌پاشی، بر سطح برگ افزوده شد اما افزایش سطوح آرسنیک باعث کاهش ۱۸ درصدی سطح برگ در مقایسه با شاهد شد (شکل ۳).

بر اساس نتایج این مطالعه محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش حدود ۱۵ درصدی سطح برگ نسبت به شاهد شد که با نتایج مطالعه عشقی و همکاران که بیان کردند طی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سطح برگ نسبت به شاهد افزایش ۱۹ درصدی نشان داد و همچنین بیات و همکاران (Bayat et al., 2012) که گزارش کردند محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک در غلظت ۲ میلی‌مولار باعث افزایش سطح برگ در گل همیشه‌بهار می‌گردد مشابهت دارد. بر اساس نظر محققین این افزایش سطح برگ طی محلول‌پاشی را می‌توان به اثر مثبت اسید سالیسیلیک بر افزایش متابولیسم CO□ و میزان فتوسنتز نسبت داد (Jamali et al., 2011; Jamali et al., 2013; Karlidag et al., 2009).

بر اساس نتایج این مطالعه افزایش غلظت تنش آرسنیک سبب کاهش ۱۸ درصدی سطح برگ گردید. این کاهش سطح برگ طی تنش ممکن به دلیل تأثیر کاهنده آرسنیک بر خصوصیات رشدی گیاه باشد، زیرا آرسنیک موجب کندی و تأخیر 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).



شکل ۳. اثر ساده سطوح اسید سالیسیلیک (a) و آرسنیک (b) بر سطح برگ

Fig. 3. Effect of Salicylic Acid (a) and Arsenic (b) on the leaf area

رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت برخی از رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل a، b و کل تحت تأثیر تیمار آرسنیک، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت و اختلاف ازنظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. در سطوح کاربرد توأم اسیدسالیسیلیک در هر سطح تنش بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی افزوده شد و بیشترین مقدار رنگیزه‌ها مربوط به محلول‌پاشی ۲ میلی‌گرم در لیتر اسید و عدم تنش بود، درحالی‌که در هر سطح تنش، با کاربرد اسید سالیسیلیک، رنگیزه‌های بیشتری نسبت به سطوح تکی آرسنیک به دست آمد (شکل ۴).

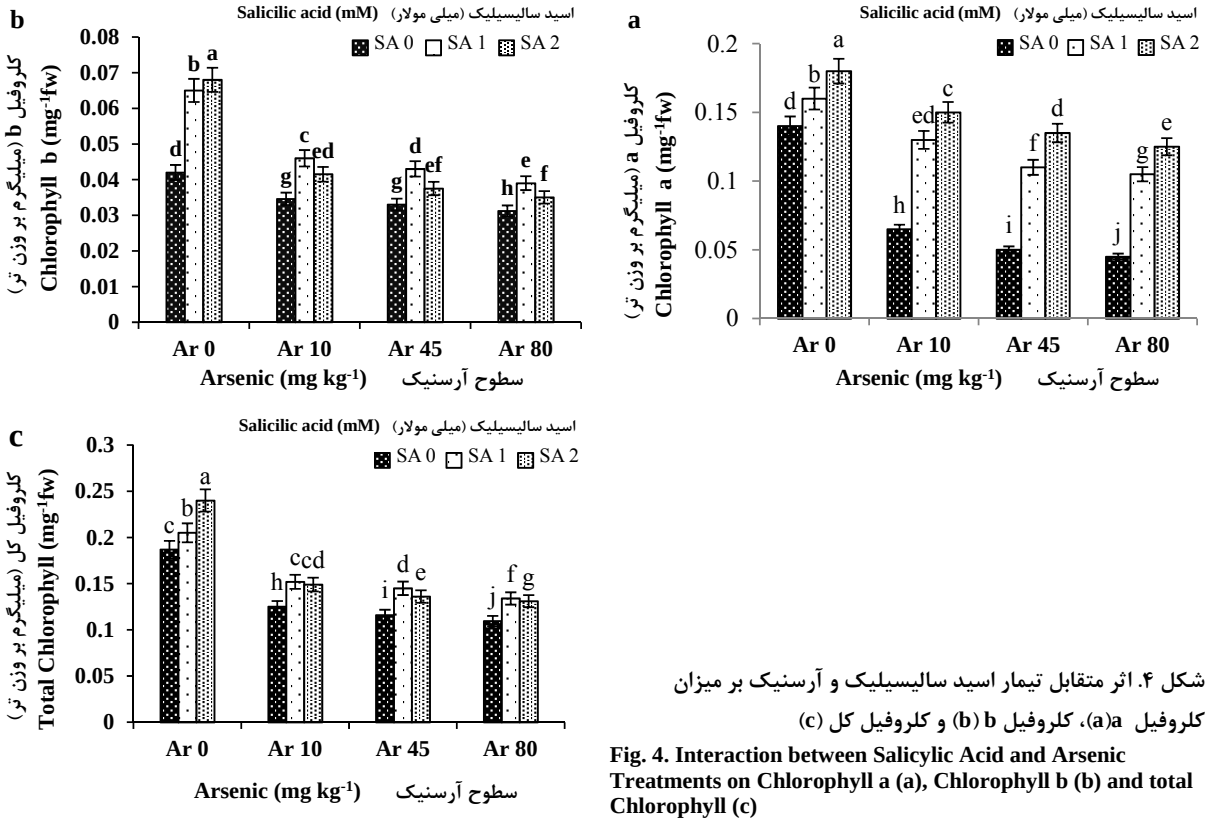
کلروفیل‌ها مهم‌ترین رنگ‌دانه‌های جذب‌کننده نور در غشاهای تیلاکوئیدی نیز است. میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی و از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده فشارهای محیطی است (Mazarie et al., 2017). کاهش محتوی کلروفیل و جلوگیری از فرایند فتوسنتز توسط فلزات سنگین در گیاهان عالی به‌خوبی مشخص شده است (Connell et al., 2001).

افزایش غلظت آرسنیک باعث تغییر شکل کلروپلاست و نفوذپذیری غشای کلروپلاست، گرد شدن و کوتاه شدن محور طولی سلول، تورفتگی غشاء، خمیدگی و تخریب غشاء شده که درنتیجه موجب کاهش محتوی کلروفیل برگ می‌گردد (Fazelian and Asrar, 2011; Karimi and souri, 2015). یافته‌های این تحقیق در مورد کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه در حضور فلز سنگین با نتایج پژوهشگران دیگر مطابقت دارد (Rai et al., 2005; Vitoria et al., 2006). بر اساس نتایج این مطالعه افزایش غلظت آرسنیک از صفر (شاهد) به ۸۰ (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) سبب کاهش ۳۰، ۲۵ و ۲۸ درصدی

کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد شد که با نتایج پژوهشگران در ذرت (Stoeva et al., 2004)، برنج (Geng et al., 2006) و گیاه (*Pteris semipinnata*) (Loua et al., 2009) همخوانی دارد. آن‌ها بیان کردند که طی تنش آرسنیک محتوی کلروفیل کل کاهش می‌یابد.

کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در حضور فلزات سنگین نشان از سمیت این عناصر برای گیاهان است. فلزات سنگین با تأثیر بر عملکرد فتوسیستم‌های I و II، تخریب و تجزیه پروتئین‌های گیرنده پروتون در فتوسیستم II و ظرفیت گرفتن پروتون بازده فتوسنتز را کاهش می‌دهند (Mahdavian et al., 2015). یکی از دلایل کاهش کلروفیل در حضور فلزات سنگین، برهمکنش این فلزات با گروه SH آنزیم‌های دخیل در ساخت کلروفیل و غیرفعال شدن این آنزیم‌ها ذکرشده است (Ali et al., 2003) و این مهار به علت تمایل فلزات سنگین به لیگاندهای پروتئینی N و S کاهش فعالیت فردوکسین + NADP ردوکتاز، کاهش فعالیت دلتا آمینولوولینیک اسید دهیدراتاز به دلیل اتصال این فلزات به گروه‌های SH این آنزیم و مهار سنتز کلروفیل، مهار کاتالیز آنزیمی چرخه کلوین و افزایش فعالیت کلروفیلاز است (Mahdavian et al., 2015; Han et al., 2008).

اسید سالیسیلیک نقش محوری در تنظیم تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیک ازجمله فتوسنتز، بسته شدن روزنه‌ها، تعرق، سنتز کلروفیل و پروتئین دارد و با تأثیر بر عوامل روزنه‌ای، آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز، رنگیزه‌ها و ساختار کلروپلاست بر میزان فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Gheysari et al., 2015).



شکل ۴. اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر میزان کلروفیل a(a)، کلروفیل b (b) و کلروفیل کل (c)

Fig. 4. Interaction between Salicylic Acid and Arsenic Treatments on Chlorophyll a (a), Chlorophyll b (b) and total Chlorophyll (c)

بر اساس نتایج این تحقیق افزایش غلظت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش ۱۱، ۲۷ و ۲۸ درصدی میزان کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد شد که با نتایج محققان در گیاه جو (El-Tayeb, 2005)، گندم

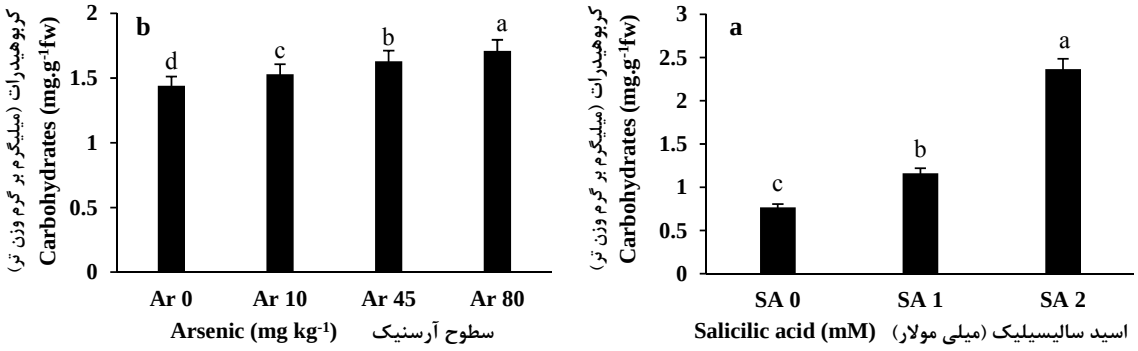
(Agarawal et al., 2005) کلزا (Ghai et al., 2002)، اسفناج (Eraslan et al., 2008) و گوجه‌فرنگی (Tari et al., 2002) همخوانی دارد. این محققان بیان کردند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش مقدار کلروفیل می‌شود.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، سطوح تکی تیمار آرسنیک محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را کاهش، ولی کاربرد آن به‌طور همزمان با اسید سالیسیلیک مانع از این اثر کاهشی شد (شکل ۱، ۲ و ۳). این نتایج با یافته‌های فاضلیان و اسرار (Fazelian and Asrar, 2011) که بیان کردند پیش تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه بابونه تحت تنش آرسنیک مانع کاهش مقدار کلروفیل شد هم‌خوانی دارد. همچنین در رابطه با نتایج حاصل از این مطالعه اسید سالیسیلیک بر گیاهچه‌های جو تحت سمیت کادمیوم (Metwally et al., 2003) و گیاهچه‌های برنج تحت تنش سرب (Jing et al., 2007). نیز گزارش مشابهی وجود دارد.

کربوهیدرات

نتایج تجزیه واریانس داده‌های جدول ۲ نشان داد که سطوح اسید سالیسیلیک، آرسنیک به‌جز اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر تجمع کربوهیدرات داشتند و اختلاف ازنظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک و اسید سالیسیلیک، بر میزان کاروتنوئید افزوده شد به‌طوری‌که بیشترین میزان کربوهیدرات نسبت به شاهد، بین غلظت‌های مورداستفاده اسید سالیسیلیک در محلول-پاشی ۲ میلی‌گرم و همچنین بین سطوح آرسنیک اعمال‌شده در سطح ۸۰ میلی‌گرم به دست آمد (شکل ۵).

کربوهیدرات‌ها نقش عمده‌ای در گیاهان ایفا می‌کنند و اعمال دوگانه‌ای در گیاهان بر عهده‌دارند آن‌ها ازیک‌طرف به‌عنوان عامل اسمزی عمل می‌کنند و از طریق پایین آوردن پتانسیل اسمزی باعث حفظ شادابی و تورژسانس سلول‌ها می‌شوند و از سویی دیگر، با تأمین انرژی لازم و اسکلت کربنی موردنیاز فرآیندهای بیوسنتزی، سبب رشد و نمو سلول‌ها می‌شوند (Sharma and Dubey, 2004; Amirjani et al., 2016). فلزات سنگین، با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه-های برگ، جریان آب را در گیاه متوقف و متعاقباً با کاهش انتقال آب به برگ‌ها و به دنبال تجمع فلزات سنگین در سلول‌ها، میزان کربوهیدرات در گیاه افزایش می‌یابد. افزایش کربوهیدرات‌ها در زمان تنش فلزات سنگین را می‌توان به توقف رشد، تخریب قندهای محلول و همچنین تولید این ترکیبات از مسیر غیر فتوسنتزی نسبت داد (Padash et al., 2016) و همچنین دلیل دیگر آن ممکن است ناشی از تأثیر فلزات سنگین بر افزایش فعالیت آنزیم‌های اینورتاز و سوکروز سنتتاز باشد که متعاقباً سبب افزایش کربوهیدرات‌ها می‌شود (Mahdavian et al., 2015).



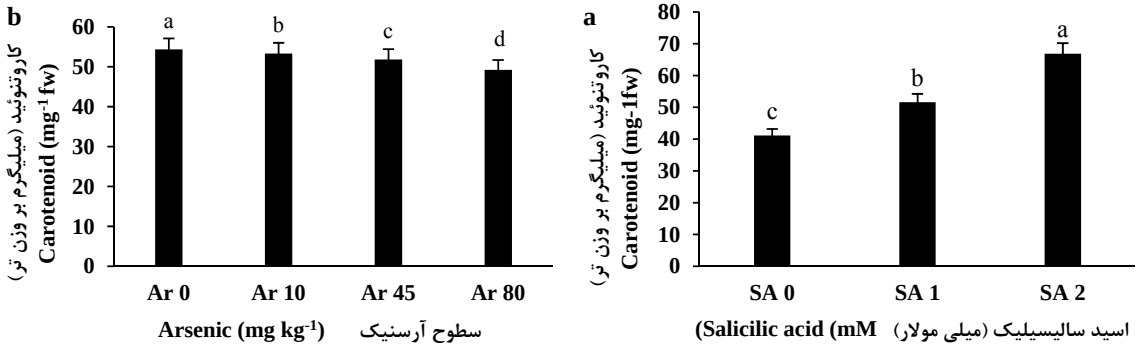
شکل ۵. اثر ساده سطوح اسید سالیسیلیک (a) و آرسنیک (b) بر کربوهیدرات

Fig. 5. Effect of Salicylic Acid (a) and Arsenic (b) on the Carbohydrate

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک میزان کربوهیدرات نسبت به شاهد افزایش ۱۶ درصدی نشان داد که با نتایج لو و همکاران (Liu et al., 2012) همخوانی دارد. آن‌ها بیان کردند افزایش غلظت آرسنیک، میزان کربوهیدرات‌ها در گیاه گلرنگ افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان کربوهیدرات-های به غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. نتایج این تحقیق مشخص نمود که با افزایش غلظت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک میزان کربوهیدرات‌ها نیز افزایش یافت به‌طوری محلول‌پاشی با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک سبب افزایش ۶۷ درصدی میزان کربوهیدرات‌ها نسبت به شاهد شد که با نتایج محققان در گیاه بادمجان (Farzaneh et al., 2013) و ریحان (Yadallahi et al., 2016) همخوانی دارد آن‌ها بیان کردند که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ نسبت به شاهد روند افزایشی داشت. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت از غشاهای کلروپلاستی و سلولی و حفاظت از ماکرومولکول‌هایی، نظیر پروتئین-ها، موجب افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در گیاهان می-شود (Khodary, 2004).

کاروتنوئید

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر میزان کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل آن‌ها تأثیری بر مقدار صفت موردبررسی نداشت. کارتنوئیدها پلی هیدروکربن‌های اشباع‌نشده‌ای می‌باشند که ۲ تا ۴ درصد وزن خشک کلروپلاست‌ها را تشکیل داده و قادر به جذب نور در طول‌موجی هستند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌گردد (Akbarian et al., 2012). نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت آرسنیک سبب کاهش ۱۸ درصدی کارتنوئیدها شد (شکل-۶a) که با نتایج محققین در سورگوم (Shaibur et al., 2008)، گندم (Chun-xi et al., 2007) و جو (Stoeva and Bineva, 2006) که بیان کردند در اثر تیمار آرسنیک مقدار کاروتنوئید کاهش همخوانی دارد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به ترتیب باعث افزایش ۶۷ درصدی میزان کاروتنوئیدها نسبت به شاهد شد (شکل -b ۶) که با نتایج محققان در گیاهان جو (El-Tayeb, 2005)، گندم (Agarawal et al., 2005) کلزا (Ghai et al., 2002)، اسفناج (Eraslan et al., 2008) و گوجه‌فرنگی (Tari et al., 2002) همخوانی دارد این محققان بیان کردند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب مقدار افزایش کاروتنوئید می‌شود.



شکل ۶. اثر ساده سطوح اسید سالیسیلیک (a) و آرسنیک (b) بر کاروتنوئید

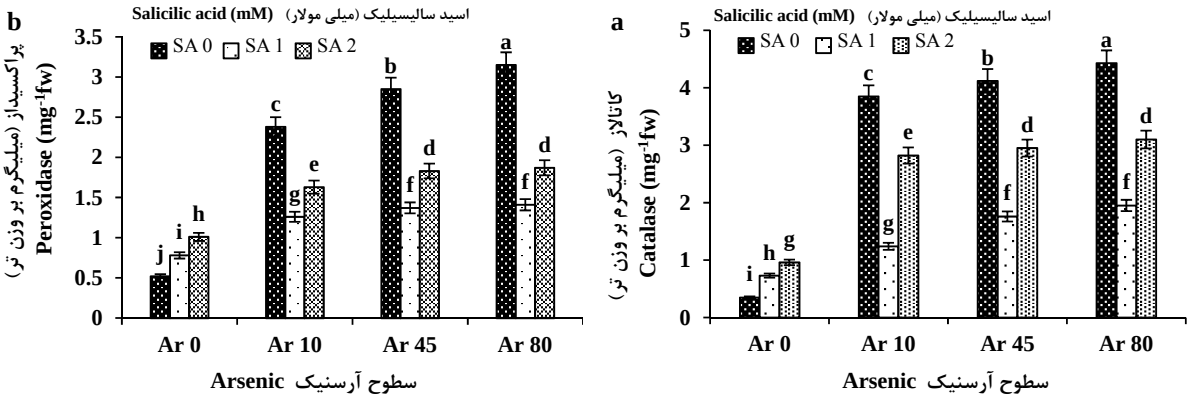
Fig. 6. Effect of Salicylic Acid (a) and Arsenic (b) on the Carotenoid

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تیمار آرسنیک، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت و اختلاف ازنظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. در سطوح کاربرد توأم اسیدسالیسیلیک در هر سطح تنش بر میزان آنزیم‌های فوق افزوده شد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار کاتالاز و پراکسیداز

مربوط به تیمار ترکیبی ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خاک آرسنیک و عدم کاربرد اسید سالیسیلیک حاصل شد (شکل ۷).

سلول گیاهی برای مقابله با اثرات منفی ناشی از انواع اکسیژن فعال به مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای متشکل از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی (آسکوربات، گلوتاتیون، آنتوسیانین، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و...) و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (کاتـالاز، سوپر اکسید دیسـموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و برخی دیگر) مجهز هستند (Fahmideh and Mahmoodi., 2017). از همکاری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، چرخه‌های گلوتاتیون-آسکوربات، مهلر و گزانتوفیل به وجود می‌آیند که مانع از تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود و یا آن‌ها را به‌طور کامل احیا و به آب تبدیل می‌کند (Esfandiari et al., 2008; Mazarie et al., 2019).



شکل ۷. اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و آرسنیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (a) و پراکسیداز (b)

Fig. 7. Interaction between Salicylic Acid and Arsenic Treatments on the Activity of catalase and peroxidas

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش سطوح تکی اسید سالیسیلیک سبب کاهش ۱۰ و ۱۲ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد که این کاهش فعالیت آنزیم‌های فوق توسط تیمار اسید سالیسلیک در این پژوهش نیز با نتایج قیصری و همکاران (Gheysari et al., 2015) چن و همکاران (Chen et al., 2007) مطابقت دارد. اسید سالیسیلیک، بازدارنده‌ی فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز که آنزیم‌های پاک‌سازی کننده‌ی پراکسیدهیدروژن هستند، بوده و درنتیجه باعث کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در گیاه می‌شود (Hegedus et al., 2001).

نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که اسید سالیسیلیک با باند شدن به آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز سبب کاهش فعالیت آنزیم‌ها در توتون و ریحان شده است (Gheysari et al., 2015). در شرایط عدم تنش به دلیل عدم تولید بیش‌ازحد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون سوپر اکسید کاهش‌یافته و درنتیجه فعالیت آنزیم‌هایی چون پراکسیداز و کاتالاز کاهش می‌یابد و با نتایج دولت‌آبادی و همکاران (Dolat-Abadi et al., 2009) که بیان کرد در شرایط عدم تنش، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود همخوانی دارد.

فلزات سنگین یا به‌طور مستقیم از طریق واکنش هابر-وییز و یا به‌طور غیرمستقیم باعث تولید انواع گونه-های اکسیژن فعال (ROS) و درنتیجه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند. آرسنیک با افزایش تحریک واکنش‌های تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تولید رادیکال‌های آزاد، به‌ویژه در غشای کلروپلاست‌ها منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو می‌گردد (Karimi and souri, 2015). در بررسی اثر آرسنیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در گیاه ریحان حاکی از تأثیر معنی‌دار آرسنیک بر فعالیت این دو آنزیم در گیاه ریحان بود که با نتایج محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2015) همخوانی دارد. در شرایط

تنش، اکسیژن فعال در گیاه افزایش می‌یابد و در این شرایط گیاه مکانیسم‌های متفاوتی را برای حذف و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به کار می‌گیرد. آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های دخیل در فرآیند جمع‌آوری و خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن هستند (Morello et al., 2005). پراکسیدازها گلیکوپروتیین‌هایی هستند که فنل‌ها را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و نقش مهمی را در جاروب کردن پراکسید هیدروژن دارد که این با کمک اسید اسکوربیک به‌عنوان یک دهنده الکترون برای احیای پراکسید هیدروژن به آب صورت می‌گیرد (Najafi et al., 2016). آنزیم کاتالاز برخلاف آنزیم پراکسیداز که فرآیند تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را با کمک سوبستراهای مختلف انجام می‌دهد بدون نیاز به سوبسترای کمکی موجب احیاء پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (Asada, 2000). کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در چرخه کالوین می‌تواند با کاهش نسبت $NADP^+/NADPH$، H^+ درکلروپلاست سبب افزایش آسیب به بیومولکول‌ها (ازجمله لیپیدها) و تولید فرم‌های فعال اکسیژن شود (Mittler et al., 2004).

در پژوهشی قیصری و همکاران (Gheysari et al., 2015) گزارش کردند که محلول‌پاشی سالیسلیک اسید در گیاهان تیمار شده با سرب باعث کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز شد که در این تحقیق هم با افزایش غلظت سالیسیلیک در هر سطح تنش میزان آنزیم‌ها کاهش یافت. افزایش ۱۵ و ۱۴ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان تحت تنش آرسنیک در این مطالعه با نتایج کریمی و سوری، (Karimi and souri, 2015) در گیاه *Isatis cappadocica* تحت تنش آرسنیک همخوانی دارد آن‌ها بیان کردند که پایین بودن محتوی پراکسید هیدروژن در تنش آرسنیک به این دلیل است که احتمالاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این وضعیت بالا بوده و حذف H_2O_2 در اندامک‌های سلولی به نحو بهتری صورت گرفته است. از سوی دیگر محتوی پراکسید هیدروژن در سطوح بالای آرسنیک به علت شدت تنش اکسیداتیو افزایش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که آرسنیک به‌عنوان یکی از عناصر سنگین سبب تغییراتی در خصوصیات مورفوفیزیولوژی گیاه ریحان شد. به‌طوری‌که با افزایش شدت تنش آرسنیک محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، سطح برگ، وزن تر و خشک، کاهش‌یافته و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کربوهیدرات‌ها در گیاه ریحان به دنبال قرار گرفتن در معرض آرسنیک افزایش داشت که به دلیل سمیت آرسنیک و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه است که آسیب‌های اکسیداتیو و خسارات فیزیولوژیک را به دنبال دارد اما کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید تا حدودی مقاومت گیاه ریحان را در برابر سمیت آرسنیک افزایش و خسارات ناشی از آن را تعدیل کرد. لذا با استناد به یافته‌های مطالعه حاضر و همچنین انجام تحقیقات تکمیلی می‌توان محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک را جهت بهبود رشد و کاهش سمیت آرسنیک در گیاه دارویی ریحان تحت تنش آرسنیک پیشنهاد کرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل با شماره گرنت UOZ-GR-9517-43 انجام شده است. بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه زابل جهت انجام تحقیق حاضر قدردانی می شود.

منابع

Akbarian, M.M., Heidari Sharifabad, H., Noormohammadi, G., Darvish Kojouri, F., 2012. The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa*). Annals of Biological Research. 3 (12), 5651 - 5658. [In Persian with English Summary].

Agarawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Meena, R.C., 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plantarum. 49(4), 541-550.

Ali, B.M., Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Singht, S.N., Singhgh, S.P., 2003. Phytoremediation of lead, nickel, and copper by Salix acmophylla boiss: Role of antioxidant enzymes and antixidant substances. Bull Environ Contam Toxicol. 70(3): 462-469.

Amirjani, M.R., Askary Mehrabadi, M., Aziz mohamadi, F., 2016. Effect of ZnO nanoparticles on vegetative factors, elements content and photosynthetic pigments of wheat (*Triticum aestivum*). Iranian Journal of Plant Biology. 8 (27), 33-48. [In Persian with English Summary].

Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23, 112-121.

Asada, K., 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 355, 1419-1431

Asadi-Karam, A., Karamt, B., Mozafari, H., 2017. Effect of Interaction of Trichontonol and Arsenic on Growth and Some Biochemical and Physiological Characteristics in Soybean. Journal of Plant Research. 30(3), 506-517. [In Persian with English Summary].

Balochi, H. R., Amini, F., Movahedi-Dehnavi, M., Atar-Zadeh, M., 2016. Effect of Different Growing Organic Substrates on Growth and Yield Components of Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under Heavy Metals Stress. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 26(2), 57-72. [In Persian with English Summary].

Bayat, H., Alirezaie, M., Neamati, H., 2012. Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 8, 258-267.

Beers, G.R., Sizer, I.V., 1952. A spectrophotometric method for measuring the break down of hydrogen peroxide by catalase. Journal of Biological Chemistry. 195, 133-140.

Cao, H., Jiang, Y., Jianjiang, C., Zhang, H., Huang, W., Li, L., Zhang, W., 2009. Arsenic accumulation in ScutellariabaicalensisGeorgi and its effects on plant growth and pharmaceutical components. Journal of Hazardous Materials. 171, 508-513.

Chen, J., Cheng, Z., Zhong, S., 2007. Effect of exogenous salicylic acid on growth and H_2O_2-Metabolizing enzymes in rice seedlings lead stress. Journal of Environmental Science. 19, 44-49.

Choudhury, A., Lahiri Choudhury, D.K., Desai, A., Duckworth, J.W., Easa, P.S., Johnsingh, A.J.T., Fernando, P., Hedges, S., Gunawardena, M., Kurt, F., Karanth, U., Lister, A., Menon, V., Riddle, H., Rübel, A., Wikramanayake, E. 2008. Elephas maximus. In: IUCN 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species. <www. iucnredlist.org> accessed Jan. 2009.

Chun-xi, L., Shu-li, F., Yan, S.H., Li-na, J., Xuyang, L., Xiao-li, H., 2007. Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. Journal of Environmental Science. 19, 725-732.

Connell, S. L., AL-Hamdani, S. H., 2001. Selested physiological responses of Kudzu to different chromium concentration. Canadian Journal of Plant Science. 81, 33-58

Cozzolino, V., Pigna, M., Di Meo, V., Caporale, A.G., Violante, A., Meharg, A.A., 2010. Influence of phosphate addition on the arsenic uptake by wheat (*Triticum durum*) grown in arsenic polluted soils. Fresenius Environmental Bulletin. 19(5), 838-845.

Dolat-Abadian, A., Sanavi, M., Sharifi, M., 2009. Effect of dehydration and ascorbic acid spraying on the activity of antioxidant enzymes and some biochemical changes in corn seedlings. Journal of Plant Research. 22(3), 407-422. [In Persian with English Summary].

El-Tayeb, M. A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 42, 215-224.

Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, DJ., Gunes, A., 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation. 55, 207-219.

Eshghi, S., Moharami, S., jamali, B., 2016. Effect of Salicylic Acid on Growth, Function and Quality of Strawberry Fruits in Parus Cultivar under Salinity Conditions. Journal of Crop Science and Technology of Greenhouse

Culture. 7(28), 163-173. [In Persian with English Summary].

Esfandiari, E., Shakiba, M.R., Mahboob, S.A., Alyari, H., Shahabivand., 2008. The Effect of Water Stress on the Antioxidant Content, Protective Enzyme Activities, Proline Content and Lipid Peroxidation in Wheat Seedling. Pakistan Journal of Biological Sciences. 11 (15), 1916-1922.

Fahmideh, L., Mahmoodi, N., 2017. Survey stress on enzymatic activation rate and secondary metabolites of *Cuminum cyminum* under manganese stress. Journal of Crop Science Research in Arid Regions. 1(2), 191-204.

Fariduddin, Q., Hayat, S., Ahmad, A., 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in Brassica juncea. Photosynthetica. 41, 281-284. [In Persian with English Summary].

Farzaneh, M., Ghanbari, M., Eftekharian, A.R., Javanmard, Sh.A., 2013. Effect of salicylic acid spraying on the amount of photosynthesis osmolites and photosynthetic pigments of an eggplant under cold stress. Iranian Journal of Plant Ecophysiology. 8(4), 75-83. [In Persian with English Summary].

Fazelian, N., Asrar, Z., 2011. Influence of interactions of arsenic and salicylic acid on growth and some physiological indices of chamomile. Plant Biology. 3(8), 1-12.

Ghai, N., Setia, R. C., Setia, N., 2002. Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. Phytomorphol. 52, 83-87.

Gheysari, S., Saied-Nematpoor, F., Safipoor-Afshar, A., 2015. Effect of salicylic acid and ascorbic acid on the content of photosynthetic pigments and activity of some antioxidant enzymes in basil under stress. Journal of Plant Research. 28(4), 814-825. [In Persian with English Summary].

Hegedus, A., Erdei, S., Horvath, G., 2001. Comparative studies of H_2O_2 detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. Plant Sciences. 160, 1085–1093.

Holy, M. C., 1972. Indole acetic acid oxidase: a dual catalytic enzyme. Journal of Plant Physiology. 50, 15-18.

Howladar, SM., 2014. A novel moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseoulus vulgaris* L.) plants. Ecotoxicology and Environmental Safety. 100. 69-75.

Jamali, B., Eshghi, S., Tafazoli, E., 2011. Vegetative and reproductive growth of strawberry plants cv. 'Pajaro' affected by salicylic acid and nickel. Journal of Agricultural Science and Technology. 13, 895-904. [In Persian with English Summary].

Jamali, B., Eshghi, S., Tafazoli, E., 2013. Vegetative growth, yield, fruit quality and fruit and leaf composition of strawberry cv. 'Pajaro' as influenced by salicylic acid and nickel sprays. Journal of Plant Nutrition. 36, 1043-1055. [In Persian with English Summary].

Jing, CH., Cheng, Z., Li-ping, L., Zhong-yang, S., Xue-bo, P., 2007. Effects of exogenous salicylic acid on growth and H_2O_2-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. Journal of Environmental Science. 19, 44- 49.

Karimi, N., Souri, Z., 2015. Investigating the interaction between arsenic and phosphorus on chlorophyll content and accumulation of malondialdehyde in *Isatis cappadocica*. Journal of Plant Process and Function. 4(11), 1-12. [In Persian with English Summary].

Karlidag, H., Yildirim, E., Turan, M., 2009. Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. Scientia Agricola. 66, 180-187.

Kerepsi, I., Toth, M., Boross, L., 1996. Water-soluble carbohydrates in dried plant. Journal Agricultur Food Chemical. 10, 3235-3239.

Khodary, S. E. A., 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize Plants. International Journal of Agriculture and Biology. 6, 5-8.

Lichtenthaler, H. K., 1987. Chlorophylls and carotenoids; Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 48, 350-382.

Lin, T., Zhu, X., Zhang, F., 2012. The Interaction effect of cadmium and Nitrogen on Populus yunnanensis. The Journal of Agricultural Science. 4 (2), 125-134.

Loua, I.Q., Yec, Z.H., Wonga, M.H., 2009. A comparison of arsenic tolerance, uptake and

accumulation between arsenic hyper accumulator *Pteris vittata* L and non-hyperaccumulator *P. semipinnata* L. A hydroponic study. Hazardous Materials. 171, 436-442

Mahdavian, K., Ghadrian, S. M., Tork-Zadeh Mahani, M., 2015. The Effect of Different Concentrations of Lead on Some Physiological Parameters in Two Populations of Harmal (*Peganum harmala* L.). Journal of Cell and Tissue. 6(4), 543-555.. [In Persian with English Summary].

Mazarie, A., Mousavi-nik, S. M., Ghanbari, A., Fahmideh, L., 2019. Effect of titanium dioxide spraying on physiological characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under water stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 12(2): 539-559. [In Persian with English Summary].

Mazarie, A., Sirousmehr, A.R., Babaei, Z., 2017. Effect of mycorrhizal fungi on some morphological and physiological charactristics of Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) under drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 33 (4), 620-635. [In Persian with English Summary].

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K. J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Barley seedling. Plant Physiology. 132, 272-281.

Mishra, A., Choudhuri, M.A., 1999. Effect of salicylic acid on heavy metal induced membrane deterioration mediated by lipooxygenases in rice. Biologia Plantarum. 42, 409 – 415.

Mohammadi, S., Hidari, M., Dahmardeh, M., Asgharipoor, M. R., 2015. Effect of different concentrations of lead on some physiological parameters in two populations of spinach. Journal of Cell and Texture. 8(4), 105-120. [In Persian with English Summary].

Morello, J.R., Romero, M.P., Ramo, T., Motilva, M.J., 2005. Evaluation of L-phenylalanine ammonialyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. Plant Science. 168, 65-72.

Najafi, F., Khavari-Nezhad, R.A., Rashidi, M., 2016. Effect of sodium selenate on some antioxidant enzymes in sunflower plant under salt stress. Journal of Plant Process and Function. 6(19), 251-263. [In Persian with English Summary].

Norani-Azad, H., Kafil-Zadeh, F., 2011. Effect of cadmium toxicity on growth, soluble sugars, photosynthetic pigments and some enzymes in safflower. Journal of Biology, Iran. 24(6), 858-887. [In Persian with English Summary].

Padash, A., Ghanbari, A., Asgharipoor, M. R., 2016. The interaction of lead and salicylic acid on some quantitative and qualitative growth parameters and antioxidant enzymes of basil. Greenhouse Crop Science and Technology. 7(27), 181-191. [In Persian with English Summary].

Pigna, M., Cozzolino, V., Violanto, A., Meharg A., 2009. Influence of phosphate on the arsenic uptake by wheat (*Triticum durum* L.) irrigated with arsenic solutions at three different concentrations. Water, Air and Soil Pollution. 197, 371-380.

Pisani, T., Munzi, S., Paoli, A., Bockor, M., Loppi, S., 2010. Physiological effects of arsenic in the (*Lichen xanthoriaParietina* L.). Chemosphere. 40, 440-454.

Rai, V., Khatoon, S., Bisht, S. S., Mehrotra, S., 2005. Effect of cadmium ongrowth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *Phyllanthus amarus* Schum and Thonn.Chemosphere. 61, 1644-1650.

Rashid Shomali, A., Khodaverdiloo, H., Samadi, A., 2012. Accumulation and tolerance to soil cadmium by *Pennisetum glausum*, *Chnopodium album*, *Portulaca oleracea* and *Descurainia sophia*. Iranian Journal of Soil Management and Sustainable Agriculture. 2(1), 45-62. [In Persian with English Summary].

Sairam, R.K., Rao, K.V., Srivastava. G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163, 1037-1046.

Shaibur, M.R., Kitajima, N., Sugawara, R., Kondo, T., Alam, Sh., Imamul-Huq, S.M., Kawai, Sh., 2008. Critical toxicity level of arsenic and elemental composition of arsenicInduced chlorosis in hydroponic sorghum. Water, Air and Soil Pollution. 191, 279-292.

Sharma, P., Dubey, R. S., 2004. Ascorbat peroxidase from rice seeding: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and

protective roles of osmolytes. Plant Science. 167(3), 541-550.

Shi, Q., Zhu, Z., 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63, 317-326.

Shri, M., Kumar, S., Chakrabarty, D., Trivedi, P. K., Mallick, S., Misra, P., Shukla, D., Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Tuli, R., 2009. Effect of arsenic on growth, oxidative stress, and antioxidant system in rice seedlings. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72, 1102-1110.

Singh, H. P., Kaur, S., Batish, D. R., Sharma, V. P., Sharma, N., 2009. Nitric oxide alleviates arsenic toxicity by reducing oxidative damage in the roots of *Oryza sativa* (rice). Nitric Oxide. 20, 289-297

Srivastava, S., Srivastava, A.K., Suprasanna, P., D'Souza, S.F., 2009. Comparative biochemical and transcriptional profiling of two contrasting varieties of Brassica juncea L. in response t arsenic exposure reveals mechanisms of stress perception and tolerance. Journal of Experimental Botany. 181, 1-13.

Stoeva, N., Bineva, T., 2003. Oxidative changes and photosynthesis in oat plants grown in As-contaminated soil. Bulg. Journal of Plant Physiology. 29 (1-2), 87-95

Szepesi, A., Csiszar, J., Gemes, K., Horvath, E., Horvath, F., Simon, M., Tari, I., 2009. Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na+ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. Journal of Plant Physiology. 166, 914-925.

Tabatabaei, S.J. 2009. Mineral Nutrition of Plants. Author Publications, 388p.

Tari, I., Csiszar, J, Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G., Szepsi, A., Szabo, M., Erdei, L., 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta Biologica Szegediensis. 46 (3-4), 55-56.

Vitoria, A. P., Cunhab, M. D., Azevedo, R. A, 2006. Ultrastructural changes of radish leaf exposed to cadmium. Environmental and Experimental Botany. 58, 47-52.

Wang, H., Zhao, S. C., Liu, R. L., Zhou, W., Jin, J. Y., 2009. Changes of photosynthetic activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress. Photosynthetica. 47(2), 277-283.

Yadav, SK, 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metals stress tolerance of plants. South African Journal of Botany. 76, 167-179.

Yadgari, M., Karimi, S., 2014. Effect of heavy metals of cadmium and nickel on yield and traits of medicinal plant purple. Journal of Modern Science in Sustainable Agriculture. 10(1), 83-92. [In Persian with English Summary].

Yadallahi, P., Asgharipoor, M. R., Bagheri, A.A., Jabari, B., Shekhpoor, S., 2013. Effects of different levels of sodium nitroprusside and arsenic on Carla's quantitative characteristics (*Momordica charantia* L.). Journal of Crop Research. 5(3), 215-225. [In Persian with English Summary].

Yadallahi, P., Asgharipoor, M. R., Bagheri, A.A., Kheri, N.A., Amiri, A., Effect of ascorbic acid on some physiological and biochemical properties of basil under arsenic toxicity. Plant Production Technology. 2016. 16(1), 207-217. [In Persian with English Summary].

Zhou, Z. S., Guo, K., Abdou-Elbaz, A., Yang, Z. M., 2009. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. Environmental and Experimental Botany. 65(1), 27-34