

## تأثیر آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید بر میزان پرولین، آنتوسیانین، فنل و صفات زراعی در دو رقم برنج (*Oryza sativa L.*)

فرزانه نجفی<sup>\*</sup>، رمضانعلی خاوری نژاد<sup>۱</sup>، منصور افشار محمدیان<sup>۲</sup> و سیده فاطمه فلاحت

<sup>۱</sup>دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران، <sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد تهران، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گilan

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۹۳/۱۰/۰۷)

### چکیده:

آرسنیک منجر به آلودگی آب‌های زیر زمینی می‌شود و بر روی گیاه، انسان و حیوان تأثیر می‌گذارد. هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در هماهنگی رشد و عملکرد گیاه از نظر کمی و کیفی دارند. به منظور ارزیابی واکنش ژنتیکی‌های برنج به آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب بلوک کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در شرایط مزرعه‌ای اجرا شد. گیاهان ۲۹ روزه ۲ ژنتیک طارم به عنوان یک رقم محلی و شیرودی به عنوان رقم پر محصول برنج در ۳ غلظت مختلف آرسنات سدیم (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولا) و ۲ غلظت جیبرلیک اسید (۰ و ۱۰ میکرومولا) مورد بررسی قرار گرفتند. صفات بررسی شده در این آزمایش شامل: میزان پرولین برگ و ریشه، میزان آنتوسیانین و فنل برگ، ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه‌های پر در خوش، تعداد دانه‌های پوک در خوش، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، بیomas کل و شاخص برداشت بودند. نتایج نشان داد که آرسنات سدیم بر تمامی این صفات تأثیر معنی داری داشت و سبب کاهش ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه‌های پر در خوش، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، بیomas کل و شاخص برداشت شد و میزان پرولین برگ و ریشه، میزان آنتوسیانین و فنل برگ و تعداد دانه‌های پوک افزایش پیدا کرد که این تأثیر در اکثر صفات در رقم طارم بیشتر از رقم شیرودی بود. افزودن جیبرلیک سبب افزایش معنی دار میزان پرولین برگ و ریشه، میزان آنتوسیانین و فنل، ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه‌های پر، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، بیomas کل و شاخص برداشت در هر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولا آرسنات سدیم در هر دو رقم طارم و شیرودی شد، گرچه این تأثیر در رقم شیرودی بیشتر بود.

واژه کلیدی: آرسنات سدیم، آنتوسیانین، برنج، پرولین، جیبرلیک اسید، صفات مورفولوژیک، فنل.

### مقدمه:

نمی‌شود و تنها می‌تواند به اشکال مختلفی تبدیل شده و یا تبدیل به ترکیبات نامحلول در ترکیب با عناصر دیگر شود. آرسنیک شبه فلزی است که در اشکال آلی و غیر آلی وجود دارد که اشکال غیر آلی آن اثرات سمی بیشتری در مقایسه با اشکال آلی دارد و فرم آرسنیک سه ظرفیتی سمی‌تر از فرم پنج ظرفیتی آن می‌باشد. آرسنیک معدنی به طور کلی در دو حالت وجود دارد. حالت اکسیداسیون آرسنیت ( $\text{NaAsO}_2$ ) و آرسنات

برنج (*Oryza sativa L.*) محصول غالب در آسیا است و بیش از ۳۰ درصد کالری مصرفی این منطقه را تشکیل می‌دهد و برخلاف دیگر غلات، در خاک غرقاب کشت داده می‌شود. آرسنات سمی‌ترین شکل از آرسنیک است که در آب و خاک محلول تحرک بالایی دارد و به طور مؤثر توسط ریشه برنج جذب می‌شود (Zheng *et al.*, 2011). آرسنیک به راحتی نابود

فرآیندهای فتوستز و رشد را تحت شرایط تنش افزایش می-دهد و نقش مهمی را در سم‌زدایی فلزات سنگین از طریق بهبود رشد گیاه و سترز کلروفیل ایفا می‌کند، ارتباط منبع و مخزن را تحت شرایط تنش تنظیم می‌کند و بر فیزیولوژی و متابولیسم گیاه تأثیر دارد (Iqbal *et al.*, 2011).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر متقابل آرسنات سدیم و جیبریلیک اسید بر میزان پرولین، آنتوسیانین، صفات مهم زراعی و مورفولوژیکی و بررسی حساسیت یا تحمل ژنتوپیپ-های برنج تحت تنش آرسنات سدیم و جیبریلیک اسید در شرایط مزرعه است.

#### مواد و روش‌ها:

بذرهای دو رقم برنج شامل طارم به عنوان رقم محلی کم محصول و شیروودی به عنوان رقم پرمحصول از مرکز تحقیقات برنج کشور واقع در شهرستان آمل تهیه شد. آزمایش در یکی از مزارع شالی کاری واقع در شهرستان ساری با عرض جغرافیایی ۳۶°۳۳' و طول جغرافیایی ۵۳' و با ارتفاع ۲۵۷۰ متر از سطح دریای آزاد در سال زراعی ۱۳۹۲ آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب بلوک کاملاً تصادفی در ۴ تکرار، تحت تیمار دو غلاظت مختلف جیبریلیک اسید (۰ و ۱۰ میکرومولار) و سه غلاظت آرسنات سدیم (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) انجام شد. میزان بارندگی متوسط ۲۵/۲۶ میلی‌متر گزارش گردیده که کمترین بارندگی در تیر ماه و بیشترین بارندگی در اردیبهشت ماه می‌باشد، متوسط درجه حرارت ۲۹/۷۲ درجه سانتی‌گراد و حداقل رطوبت ۳۲ درصد و حداکثر آن ۱۰۰ درصد گزارش شده است. بذرها با هیپوکلریت سدیم ده درصد به مدت ده دقیقه استریل شد، سپس برای جوانه‌زنی در حolle کاغذی مرتکب به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در مکانی تاریک نگهداری شدند. بذرهای مورد مطالعه در اردیبهشت ماه سال ۹۲ ابتدا در شرایط آب و خاک مزرعه خزانه‌گیری شدند و در مرحله ۳-۲ برگی و سن ۳۰-۲۵ روزه به فاصله ۲۰×۲۰ سانتی‌متر در گلدانهای پر شده از خاک مزرعه نشاء شدند. قبل از شروع تیمار آنالیز خاک انجام شد،

سدیم ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ ) که هر دو برای انسان و گیاهان سمی هستند. وجود آرسنیک در آب مربوط به فرایند سنگ‌شویی منبع سنگ و رسوبات حاوی آرسنیک و همچنین مرتبط با محیط‌های بیوژئوشیمیایی، رسوبات آتشفسانی، ضایعات معدن و محلهای دفن زباله است. تحت شرایط تنش آرسنیک، گیاه دچار تغییرات متفاوتی شامل جذب و انتقال، متابولیسم و بیان ژن می‌شود. قرار گرفتن در محیط‌های تنش زا مانند خشکی، (Reactive oxygen ROS) گرما و عناصر سنگین تولید species) را در گیاهان افزایش می‌دهد و تنش اکسیداتیو به وجود می‌آورد. آنتی اکسیدان‌های تولید شده در سلول‌ها از فعالیت‌های بیوژئوشیمیایی دفاع می‌کنند و سبب می‌شوند که گیاه شرایط تنش را تحمل کند (Thomas *et al.*, 2007). متأسفانه، در برنج جذب و انتقال آرسنیک به دانه نسبت به دیگر محصولات زراعی زیاد است. معمولاً در برنج غلظت بالایی از آرسنیک، بین ۰/۰۵ تا ۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وجود دارد (Sommella *et al.*, 2013).

آرسنیک اثرات سمی زیادی بر روی غشای سلول‌های ریشه دارد، زیرا آرسنیک پس از جذب با گروه سولفیدریل پروتئین واکنش نشان می‌دهد و باعث اختلال عملکرد ریشه و مرگ سلولی می‌شود. همچنین از جذب سایر مواد شیمیایی و جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌کند و بر تعدادی از فعالیت‌های بیوژئوشیمیایی تأثیر می‌گذارد (Carbonell *et al.*, 1998).

متابولیت‌های گیاهی در تنش آرسنیک و دیگر عناصر سنگین تحت تأثیر قرار می‌گیرند، از جمله متابولیت‌ها می‌توان اسیدهای آمینه خاص مانند پرولین، هیستیدین، پیتیدهایی مانند گلوتامین را نام برد که اهمیت کاربردی در زمینه تحمل به تنش فلزات سنگین دارند. جذب آرسنیک در خاک در ارقام مختلف برنج متفاوت می‌باشد که تحمل و حساسیت ارقام مختلف برنج تحت شرایط تنش می‌تواند بر عملکرد محصول تأثیر گذار باشد (Davea *et al.*, 2013). جیبریلین یک فیتوهormون شناخته شده‌ای است که از یک گروه تتراسیکلیک دی‌ترین تشکیل می‌شود و در جوانه‌زنی بذر، گسترش برگ، ساقه، گل، کرک اولیه، توسعه گل و میوه نقش موثری دارد و

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق خاک (Cm)	درصد مواد خنثی شونده (%)	کربن آلی (%)	درصد ماده آلی (%)	نیتروژن کل (%)	فسفر (p.p.m)	پتاسیم (p.p.m)	آرسنیک (p.p.m)
۰	۳۰	۲	۲/۴۴	۰/۱۵	۲۶/۷	۲۹/۴	<۱۰
۰-۰	۳۰-۰	رسی	۳۶	۳۶	۲۸	۱/۴۲	۷/۲۶
		رس (%)				سیلت (%)	
						هدایت الکتریک (Ec)	
							اسیدیته گل اشیاع (%)
							درصد اشیاع (%)

سانتریفوگور شدند. محلول رویی به دکانتور انتقال داده شد و ۲ میلی لیتر اتر جهت حذف کلروفیل به آن اضافه شد. پس از تشکیل دو فاز، فاز زیری دکانتور برای تعیین مقدار فنل و آنتوسیانین استفاده شد. برای تعیین میزان آنتوسیانین جذب محلول فوق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر تعیین و جذب ناویژه در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. برای تعیین مقدار فنل (Dia *et al.*, 2008)، جذب محلول در طول موج ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. با استفاده از نمودارهای استاندارد غلاظت آنتوسیانین و فنل محاسبه شد.

**اندازه گیری صفات زراعی:** جهت اندازه گیری عملکرد و اجزای عملکرد، پس از رسیدگی فیزیولوژیک دانه و پایین آمدن رطوبت دانه‌ها، بوته‌ها در مرداد ماه سال ۹۲ رقم طارم محلی و شهریور ماه سال ۹۲ رقم شیرودی برداشت شدند. ویژگی‌های زراعی بررسی شده در این تحقیق شامل: ارتفاع گیاه (قبل از برداشت تا انتهای خوش و بدون در نظر گرفتن ریشک و یا زمان آخرین ارزیابی برای ژنتیپ‌هایی که به گل نرفته‌اند بر حسب سانتی متر)، طول خوش (در مرحله رسیدگی به طور تصادفی از گره گردن خوش تا نوک بلندترین انشعاب بر حسب سانتی متر)، تعداد دانه‌های پر و تعداد دانه‌های پوک در خوش (خوشها از ناحیه گردن جدا و کل دانه‌ها و سپس دانه‌های پر و پوک در هر خوش به تفکیک شمارش شدند)، وزن هزار دانه (نمونه‌های ۵۰ عددی به عنوان معیاری برای اندازه گیری وزن هزار دانه استفاده شد)، عملکرد دانه (که به صورت وزن دانه‌های تمام خوش‌های هر بوته پس از برداشت

خاک کمتر از ۱۰ ppm آرسنیک داشت. پس انتقال گیاهک‌های برجی به گلستان، در مرحله اول به طور همزمان توسط غلاظت‌های مختلف آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید تیماردهی شدند. اسید جیبرلیک طی چهار مرحله در فاصله زمانی ۳ روز افشاره سازی شد. برای اندازه گیری میزان پرولین و آنتوسیانین و فنل گیاهان ۱۴ روز بعد از تیماردهی برداشت شدند. نتایج تجزیه خاک در جدول ۱ آمده است.

**اندازه گیری میزان پرولین برگ و ریشه گیاه:** برای اندازه گیری پرولین از روش (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. ابتدا ۰/۲۵ گرم از بافت‌تر برگ و ریشه با اسید سولفوسالیسیلیک برای تهیه عصاره به خوبی سائیده شد، سپس ۱ میلی لیتر از عصاره صاف شده را با ۱ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش ریخته و لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و پس از سرد شدن نمونه‌ها جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شدند.

**اندازه گیری میزان آنتوسیانین و فنل:** برای سنجش میزان آنتوسیانین از روش (Dia *et al.*, 2006) استفاده شد. به این منظور، ۰/۳ گرم از بافت‌تر اندام هوایی به دقت توزین و در هاوونی حاوی ۳ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵٪ و اسید کلریدریک ۱٪ به نسبت ۹۹ به ۱) ساییده شد، عصاره تهیه شده در فالکون ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از تاریکی خارج شده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g

شدند. از جمله عوامل تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی، (۱) کاهش تخریب پرولین (۲) افزایش در بیوسنتر پرولین (۳) کاهش سنتز پروتئین یا استفاده پرولین (۴) هیدرولیز پروتئین ها پیشنهاد شده است. افزودن جیبرلین تحت تنفس آرسنات موجب افزایش میزان پرولین در برگ و ریشه گردید و سبب افزایش سازگاری گیاه در تنفس می‌شود. مشابه این نتایج را Stewart و Lee (۱۹۷۴) نشان دادند که کاربرد جیبرلین در شرایط تنفس شوری از طریق افزایش تبدیل گلوتامات به پرولین در اثر فعالیت آنزیم سنتز کننده پرولین موجب افزایش پرولین برگ و ریشه می‌شود. در نتیجه پرولین می‌تواند به عنوان یک مولکول علامت‌ده، یک مسیر دفاعی، تنظیم کننده متابولیسم و فرآیندها رشد و نمو عمل کند و فرصت‌های زیادی را برای بهبود عملکرد گیاه فراهم کند (Levent Tuna *et al.*, 2008). نتایج مشابه از تأثیر جیبرلین در شرایط تنفس نیکل در گندم (Siddiqui *et al.*, 2010)، تأثیر سالیسیلیک اسید و تنفس آب در گیاه موز (*Musa acuminata*) (Shirani Bidabadi *et al.*, 2012) cv. 'Berangan', AAA و تأثیر جیبرلین در گیاه گندم تحت تنفس کادمیوم، روی و سرب (Ergün and Öncel, 2012) مشاهده شدند.

**میزان آنتوسیانین و فنل:** در جدول های ۲ و ۳ مشاهده می‌شود با افزایش میزان آرسنیک میزان آنتوسیانین و فنل در هر دو رقم برنج به طور معنی‌دار نسبت به شاهد افزایش می‌یابد که این افزایش فوق در رقم شیرودی بیشتر از طارم می‌باشد. تیمار همزمان جیبرلیک اسید و آرسنیک ۱۰۰ میکرومولار در رقم شیرودی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری را در میزان آنتوسیانین ایجاد کرده است در حالی که در رقم طارم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این تغییر در میزان ترکیبات فنلی سبب افزایش معنی‌داری در رقم طارم شده است. تیمار همزمان جیبرلیک اسید با آرسنیک نسبت به گیاهان تیمار نیافته با جیبرلیک اسید کاهش معنی‌داری را در میزان آنتوسیانین و ترکیبات فنلی رقم شیرودی نشان می‌دهد.

آنتوسیانین در پاسخ به تعدادی تنفس‌ها از جمله تنفس عنصر سنگین افزایش می‌یابد، این احتمال وجود دارد که این ترکیب

با میزان رطوبت ۱۴ درصد بر حسب گرم، عملکرد ماده خشک و شاخص برداشت بود.

**تجزیه و تحلیل آماری:** در تمامی موارد مقایسه میانگین تیمارها با روش دانکن صورت گرفت و برای انجام تجزیه‌های آماری از نرم افزار SPSS v.16 استفاده شد.

## نتایج و بحث:

**میزان پرولین برگ و ریشه:** با افزایش تنفس آرسنات سدیم، محتوای پرولین در برگ‌ها و ریشه‌ها در هردو رقم به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. برهمکنش آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید سبب افزایش معنی‌دار در محتوای پرولین برگ هر دو رقم در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار شده است در حالی که این افزایش در تیمار ۱۰۰ میکرومولار آرسنات سدیم در هر دو رقم معنی‌دار بوده است (جدول ۲). پرولین یک اسید آمینه ضروری است که در بسیاری از گونه‌های گیاهی در پاسخ به تنفس تجمع می‌یابد و از ساختارهای درون سلولی و ماکرومولکول‌ها تحت شرایط تنفس محافظت می‌کند. عملکرد پرولین همانند یک پشتیبان مولکولی که قادر به محافظت از پرولین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف مطرح می‌شود، مثال‌هایی از این نقش عبارتند از: پیشگیری از تجمع پروتئین، ثبات لاكتات دهیدروژناز در طی افزایش حرارت، محافظت از نیترات ردوکتاز در تنفس اسمتیک و عنصر سنگین و پایداری ریبونوکلئازها و پروتئازها تحت تنفس آرسنات می‌باشد.

پرولین می‌تواند سطح (ROS) را کاهش دهد و در نتیجه از مرگ سلولی برنامه ریزی شده جلوگیری کند و می‌تواند پراکسیداسیون لیپید را در سلول جلبک که تحت تنفس آرسنیک قرار گرفته‌اند را کاهش دهد (Szabados and Savoure, 2009). در این مطالعه آرسنات سدیم سبب تجمع پرولین در برگ و ریشه هر دو رقم می‌گردد که نتایج مشابه در تأثیر آرسنیک در نهالچه برنج (Mishra and Dubey, 2006) تأثیر ترکیبی از خشکی و حرارت در میزان پرولین در گیاه تباکو (Cvikrov *et al.*, 2013) و تأثیر شوری و کادمیوم در گیاه لوبیا (Howladar 2014) (*Phaseolus vulgaris* L.) مشاهده

جدول ۲- تأثیر آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید بر میزان پرولین برگ و ریشه، آنتوسیانین و فتل برگ در دو رقم برج					
فتل	آنتوسیانین	پرولین برگ	پرولین ریشه	جیبرلیک اسید	آرسنات سدیم
(mg g <sup>-1</sup> F.W.)	(mg g <sup>-1</sup> F.W.)	(mg g <sup>-1</sup> F.W.)	(mg g <sup>-1</sup> F.W.)	(μM)	(μM)
۱۴۳۵/۶۰±۱۷۱ <sup>d</sup>	۵/۷۴±۱/۰۷ <sup>f</sup>	۳۴/۸۵±۲/۴۵ <sup>f</sup>	۲۰/۴۳±۱/۸۹ <sup>d</sup>	۰	۰
۱۶۲۵/۰۲±۶۲ <sup>abcd</sup>	۹/۰۸۱±۱/۰۷ <sup>ef</sup>	۸۱/۲۶±۸/۸۳ <sup>abc</sup>	۶۲/۰۳±۱/۹۱ <sup>b</sup>	۱۰	طارم
۱۷۶۱/۴۹±۶۶/۹ <sup>abc</sup>	۹/۴۹۶±۱/۰۴ <sup>ef</sup>	۷۰/۵۴±۴/۰۳ <sup>cd</sup>	۳۰/۸۴±۱/۲۰ <sup>c</sup>	۰	
۱۵۷۹/۵۴±۴۰/۶ <sup>bcd</sup>	۷/۲۰۵±۰/۳۹ <sup>ef</sup>	۵۷/۱۰±۴/۱۷ <sup>de</sup>	۱۳/۱۷±۰/۴۴ <sup>de</sup>	۱۰	
۱۷۷۲/۲۰±۱۲۵ <sup>abc</sup>	۱۲/۶۶±۰/۸۹ <sup>c</sup>	۶۸/۸۰±۳/۳۱ <sup>cd</sup>	۳۸/۲۲±۲/۲۱ <sup>c</sup>	۰	
۱۷۶۶/۸۴±۵۴/۲۲ <sup>abc</sup>	۷/۴۱۵±۰/۸۳ <sup>ef</sup>	۸۸/۵۰±۸/۴۸ <sup>ab</sup>	۷۸/۵۱±۸/۲۷ <sup>a</sup>	۱۰	
۱۴۴۷/۰۱±۸۸/۶ <sup>d</sup>	۲۳/۷۸±۱/۰۴ <sup>d</sup>	۴۵/۴۲±۲/۲۳ <sup>ef</sup>	۱/۳۵۲±۰/۱۶ <sup>f</sup>	۰	۰
۱۵۸۵/۱۳±۶۹/۹ <sup>cd</sup>	۲۷/۱۵±۲/۳۶ <sup>cd</sup>	۵۴/۴۹±۳/۴۵ <sup>de</sup>	۱۱/۷۶±۰/۹۰ <sup>e</sup>	۱۰	شیرودی
۱۸۲۰/۳۹±۴۲/۴ <sup>ab</sup>	۳۱/۱۵±۱/۷۱ <sup>c</sup>	۷۸/۱۹±۷/۱۶ <sup>bc</sup>	۲۱/۱۲±۰/۸۷ <sup>d</sup>	۰	
۱۴۷۲/۵۱±۲۲/۰ <sup>d</sup>	۲۴/۹۰±۰/۹۶ <sup>d</sup>	۸۰/۱۰±۷/۰۱ <sup>abc</sup>	۱۷/۵۳±۱/۵۶ <sup>de</sup>	۱۰	
۱۸۵۵/۱۴±۴۸/۳ <sup>a</sup>	۴۸/۶۴±۵/۴۹ <sup>a</sup>	۹۱/۲۴±۴/۷۳ <sup>ab</sup>	۳۰/۰۴±۱/۷۲ <sup>c</sup>	۰	
۱۴۷۹/۰۷±۴۴/۲ <sup>d</sup>	۳۹/۸۱±۱/۶۲ <sup>b</sup>	۹۷/۴۴±۵/۴۹ <sup>a</sup>	۳۲/۵۲±۲/۰۵ <sup>c</sup>	۱۰	

حرروف مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می باشد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس در بهمکنش آرسنات سدیم و جیبرلیک اسید بر پرولین برگ و ریشه، آنتوسیانین و فتل برگ در دو رقم گیاه برج

منبع تغییرات	درجه آزادی	پرولین برگ	پرولین ریشه	آنتوسیانین برگ	فتل برگ
رقم	۱	۵/۵۷۸۹ <sup>****</sup>	۱۷۸/۰۶۸ <sup>****</sup>	۴۲۵/۹۲۶ <sup>****</sup>	۱/۲۳۸ <sup>***</sup>
Na <sub>2</sub> HAsO <sub>4</sub>	۲	۳۳/۷۱۶۶ <sup>****</sup>	۸۸/۵۲۰ <sup>****</sup>	۳۲/۶۵۷ <sup>****</sup>	۶/۷۱۵ <sup>****</sup>
GA <sub>3</sub>	۱	۱۲/۹۵۹۷	۵۷/۹۴۵	۵/۱۵۰ <sup>****</sup>	۴/۸۵۳
رقم	۲	۵/۹۲۲۶ <sup>****</sup>	۳۵/۹۶ <sup>****</sup>	۱۹/۶۰۶ <sup>****</sup>	۰/۳۰۵
Na <sub>2</sub> HAsO <sub>4</sub> * GA <sub>3</sub>	۲	۸/۹۸۴۶ <sup>***</sup>	۵۱/۲۰۲ <sup>***</sup>	۷/۲۳۷	۷/۶۵۵
رقم*	۱	۳/۳۴۷۴	۳۲/۳۳۲	۱/۱۲۶ <sup>****</sup>	۴/۹۲۰
رقم*	۲	۵/۵۴۷۳ <sup>***</sup>	۲۵/۶۵۶ <sup>***</sup>	۰/۳۱۷	۰/۸۷۹

\*\*\* در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی دار است. \*\*\* در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی دار است.

اکسیژن می شود. که نتایج مشابه در گیاه آراییدوپسیس تحت تنش خشکی (Sperdouli and Moustakas, 2012) و در گیاه انگور (*Vitis vinifera* L.) تحت شرایط دمای پایین (Romero *et al.*, 2008) مشاهده شدند. در این مطالعه جیبرلین مقدار آنتوسیانین را در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار آرسنات سدیم در برگ هر دو رقم افزایش می دهد. در نتیجه افزایش میزان آنتوسیانین در بافت گیاه، پیری را می تواند به تأخیر اندازد (Mansouri, 2012).

به عنوان یک ناقل فلز سنگین به واکوئل عمل کند. مارس و والبیت (سال ۱۹۹۷) گزارش کردند که کادمیوم می تواند سترن آنزیم گلوتاتیون-S-ترنسفراز (GST) (Gluthathion-S-) transferase که آنزیم کلیدی در آخرین مرحله بیوسنتر آنتوسیانین است را تحریک کند و از این طریق موجب افزایش سترن آنتوسیانین شود. افزایش در مقدار آنتوسیانین برگ در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار آرسنات سدیم به گیاه در شرایط تنش کمک می کند و سبب ازبین بردن رادیکال آزاد

آزمایشی در هر دو رقم برنج طارم محلی و شیرودی اختلاف معنی داری در سطح احتمال کمتر از ۵٪ وجود دارد. مقایسه میانگین تیمارها در جدول ۴ نشان می دهد که در غلظت های ۵۰ میکرومولار آرسنیک، ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه های پر در خوش و وزن هزار دانه در هر دو رقم برنج به طور معنی داری کاهش یافت. غلظت ۱۰۰ میکرومولار آرسنیک باعث کاهش معنی دار در تعداد دانه های پر، عملکرد دانه، عملکرد ماده خشک و شاخص برداشت در رقم طارم شد، در حالی که در رقم شیرودی غلظت ۱۰۰ میکرومولار آرسنیک سبب کاهش معنی دار در میزان طول خوش، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک شد و تفاوت معنی داری را در میزان ارتفاع گیاه، تعداد دانه پر، تعداد دانه پوک و شاخص برداشت نشان نداد. بیشترین تأثیر تنش ناشی از غلظت زیاد آرسنیک بر روی رقم طارم محلی و کمترین تأثیر تنش بر روی رقم شیرودی مشاهده شد. افزودن جیبرلین در غلظت ۵۰ میکرومولار آرسنیک سبب افزایش معنی داری در ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه پر، وزن هزار دانه و عملکرد دانه نسبت به شاهد و تیمار ۵۰ میکرومولار آرسنیک گردید و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار آرسنیک ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه های پر، تعداد دانه پوک، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و عملکرد ماده خشک به طور معنی داری نسبت به تیمار ۱۰۰ میکرومولار آرسنیک در رقم طارم محلی افزایش نشان داد در حالی که در رقم شیرودی جیبرلین سبب افزایش معنی دار در طول خوش، تعداد دانه پر، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت در هر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار آرسنیک نسبت به شاهد شد و همچنین ارتفاع گیاه، تعداد دانه های پوک و عملکرد دانه نسبت به تیمار آرسنیک افزایش معنی داری را نشان داده است (جدول ۵).

رشد ریشه و ساقه و طول و وزن خشک ریشه و ساقه در غلظت های بالایی از تیمار آرسنیک کاهش می یابد و از جذب مواد غذایی در ریشه جلوگیری می شود. رشد کل گیاه متوقف می شود در نتیجه زی توده (بیومس) گیاهان کاهش می یابد. مطالعات نشان می دهد که وجود عناصر سنگین در دانه

سالیسیلیک تحت تنش آب در گیاه سیب زمینی (*Lycopersicon esculentum*) مشاهده شدند.

در گیاه *Phaseolus vulgaris* با افزایش میزان سرب به طور قابل توجهی محتوای فنل افزایش یافته، افزایش میزان ترکیبات فنلی را می توان تحت عوامل مختلف زیست محیطی و شرایط تنش مشاهده کرد. افزایش فنل در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم های دخیل در متابولیسم ترکیبات فنلی گزارش شده که سنتز فنل را تحت تنش فلز سنگین نشان می دهد. فنل به طور کلی از تنش اکسیداتیو به وسیله مهار تولید اکسیژن فعال با شکستن واکنش های زنجیره ای رادیکال در طی پراکسیداسیون لیپید جلوگیری می کند. فنل ها به عنوان عوامل احیا کننده کلاتورهای فلزی عمل می کنند (Hamid et al., 2010). تجمع آنتوسیانین و فنل همبستگی مثبتی با سطح تولید ROS دارد و عملکردی همانند مولکول علامت ده برای تجمع آنتوسیانین دارد. افزایش فنل می تواند به عنوان یک مکانیسم حفاظتی برای حداقل رساندن تنش اکسیداتیو عمل کنند (MD-Aktar et al., 2009). نتیجه مشابه در مركبات تحت تنش مس (Merlin et al., 2012)، چهار رقم زیتون (*Olea europaea L.*) (Petridis et al., 2012). فیتوهورمون ها، به طور گسترده برای تحریک تجمع برخی متابولیت های ثانویه مهم در گیاهان استفاده می شوند. تجمع فولیک اسید در گیاهان توسط ABA و اتیلن می تواند فعالیت های PAL را تحریک کند که سبب تجمع اسیدهای فنلی و تولید فنل می شود (Liang et al., 2013). نتایج مشابه در نهال تریچه که اپی برایسینولیدها باعث بهبود و افزایش سطح فنل تحت تنش کروم (VI) می شود (Choudhary et al., 2011)، برهمکنش فلزات سنگین (سرب، روی و کادمیوم) و سالیسیلیک اسید و تنش خشکی در جو (Fayez and Bazaid, 2014) و بر همکنش جیبرلین و خشکی در گندم (*Triticum aestivum L.*) (Ergün and Öncel, 2012) مشاهده شدند.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بین تیمارهای



برنج (Hasamuzzaman *et al.*, 2009) نتایج مشابه از تأثیر مس در برنج (Jia-kuan *et al.*, 2005) و تأثیر تنفس خشکی در برنج (Sabetfar *et al.*, 2013) مشاهده شد.

جیرلین محتوای پروتئین را از طریق فعالیت نیترات ردوکتاز افزایش می دهد و تحریک آنزیم های سنتز پروتئین به وسیله‌ی جیرلین سبب سنتز پروتئین کل می‌شود (Shah, 2007). در این مطالعه افزودن جیرلین سبب افزایش پارامترهای فیزیولوژیکی در دو رقم برنج شده است، هنگامی که جیرلین به عنوان ماده اولیه در برنج استفاده می‌شود، سبز شدن و تولید ماده خشک را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد و در شکستن نشاسته ذخیره شده در بذر جهت رشد جنبین در طی رویش استفاده می‌شود. همچنین باعث افزایش مقاومت دانه به تنفس اسمزی می‌شود و در درجه حرارت بالا یا پایین به وسیله گلوتاتیون ردوکتاز و پراکسیداز فعال سازی شده و سبب افزایش رشد گیاه می‌گردد. جیرلین بر رشد بوته و عملکرد تحت شرایط تنفس با ایجاد فعالیت منبع و مخزن تأثیر مثبت می‌گذارد و قدرت منع را از طریق بهبود فتوستتر از طریق نفوذ برخی از آنزیم‌های مربوط به فتوستتر مانند (روبیسکو، فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات و ساکارز فسفات سنتاز)، سطح برگ، نور و بارگیری آبکش موجب می‌شود. جیرلین به تقسیم سلولی در مریستم ریشه و ساقه کمک می‌کند و در نتیجه سبب ایجاد تعداد پنجه‌های بیشتری می‌شود و هرچه تعداد پنجه‌های تولید شده توسط گیاه بیشتر باشد، درصد بهره‌وری و عملکرد دانه بیشتر می‌شود و در وزن دانه که منعکس کننده عملکرد در خوشة است، تأثیر می‌گذارد. افزایش عملکرد ممکن است به دلیل سیستم ریشه‌ایی باشد که به خوبی توسعه یافته و جذب عناصر توسط گیاه را افزایش دهد و سبب بهبود رشد خوشه، پر شدن دانه و عملکرد دانه می‌شود (Sabetfar *et al.*, 2013). آنزیم جیرلین اپی‌اکسیداز در برنج منجر به افزایش طول گره انتهایی در مرحله سنبله می‌شود و بیوسنتز جیرلین در مریستم رخ می‌دهد و در داخلی‌ترین قسمت بافت پوست تجمع می‌باشد که مکان‌هایی برای عمل جیرلین در رشد ریشه می‌باشند. جیرلین سبب بهبود بهره‌وری

موجب تجمع رادیکال آزاد اکسیژن فعال می‌شود. در سلول‌های برگ گیاه گندم با افزایش آرسنیک رادیکال آزاد اکسیژن فعال افزایش می‌باید و خسارت به سلول گیاهی در شرایط تنفس وارد می‌کند، بنابراین تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن فعال سبب خسارت به سلول در شرایط تنفس می‌شود (Chun-xi *et al.*, 2007).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه تحت شرایط تنفس کاهش می‌باید که این کاهش ممکن است ناشی از کاهش سطح برگ و مقدار فتوستتر باشد. گیاه ممکن است با حفظ برگ‌های سبز مکانیسم از دست دادن آب را تحمل کنند و اجازه می‌دهد که گیاه فعالیت متابولیکی را با وجود پتانسیل پایین آب برگ حفظ کند. وزن هزار دانه همانند تعداد دانه با افزایش تنفس کاهش می‌باید و بازده محصولات کشاورزی را کاهش می‌دهد (Faizan *et al.*, 2012).

تنفس در طول مراحل مختلف رشد ممکن است انتقال محصولات فتوستتری را به دانه کاهش دهد و در نتیجه وزن دانه کاهش و تعداد دانه‌های خالی افزایش یابد، گرچه میزان کاهش به نوع رقم بستگی دارد که در این تحقیق تأثیر این در رقم طارم بیشتر از شیرودی بوده است. همچنین در شرایط تنفس، تعداد سلول‌های آندوسپرم کاهش می‌باید و تشکیل آمیلوپلاست محدود می‌شود که میزان کاهش در وزن دانه از لحظه سرعت و طول دوره رشد با کاهش ظرفیت آندوسپرم و با میزان تجمع نشاسته در ارتباط است. معمولاً شرایط تنفس باعث پیری زودرس می‌شود و طول دوره‌ی پرشدن دانه را افزایش می‌دهد و سبب انتقال مجدد محصولات فتوستتری از کاه به دانه می‌شود. کاهش در وزن هزار دانه ممکن است به دلیل تجمع کمتر کربوهیدرات‌ها و سایر مواد غذایی با توجه به تنفس آرسنیک باشد که در رقم طارم بیشتر از رقم شیرودی بوده است. کاهش عملکرد خوشه در سطوح بالاتر تنفس آرسنیک می‌تواند به دلیل تجمع کمتر فتوستتر در بخش تولید مثل باشد و این که عملکرد دانه برنج به شدت وابسته به تعداد پنجه خوشه دار تولید شده در هر بوته است. کاهش در تعداد پنجه منجر به کاهش عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک می‌شود

تحت تنش آرسنات سدیم، ارتفاع گیاه، طول خوش، تعداد دانه پر در خوش، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، عملکرد ماده خشک در هر دو رقم طارم و شیروودی برنج کاهش یافت که رقم شیروودی مقاومت بیشتری نشان داد. میزان پرولین برگ و ریشه و میزان آنتوسبیانین و فنل برگ افزایش یافته است که میزان سازگاری گیاه را تحت شرایط تنش افزایش می دهد. افزودن جیبرلیک اسید سبب افزایش صفات فوق الذکر و همچنین افزایش تولید محصول و کاهش سمیت تنش آرسنات سدیم در شرایط مزرعه ای شد.

بوته و عملکرد گیاه می شود و سبب سازگاری رشد گیاه در برابر تغییرات محیطی می شود (Claeys *et al.*, 2013). نتایج مشابه از تأثیر جیبرلین در گیاه برنج تحت تنش اسمزی (Kareem and Ismail 2013)، در گیاه ذرت تحت تنش خشکی (Soroushi *et al.*, 2011; Shaddad *et al.*, 2011) و جیبرلین (Shah, 2007) تأثیر تنش شوری و جیبرلین در گیاه شب بو مشاهده شد.

### نتیجه گیری کلی:

### منابع:

- Azolla imbricate. Journal of Environ Toxicology 21: 505-512.
- Ergün, N. and Öncel, I. (2012) Effects of some heavy metals and heavy metal hormone interactions on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Gun 91) seedlings. African Journal of Agricultural Research 7:1518-1523.
- Faizan, S., Kausar, S. and Perveen, R. (2012) Variation in growth, physiology and yield of four chickpea cultivars exposed to cadmium chloride. Journal Environmental Biology 33: 1137-1142.
- Fayez, K. A. and Bazaid, S. A. (2014) Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 13: 45-55.
- Hamid, N., Bukhari, N. and Jawaied, F. (2010) Physiological responses of *Phaseolus vulgaris* to different lead concentrations. Pakistan Journal Botany 42: 239-246.
- Hasamuzzaman, M., Fujita, M., Islam, M. N., Ahamed, K. U. and Nahar, K. (2009) Performance of four irrigated rice varieties under different levels of salinity stress. International Journal of Integrative Biology 6:2-85.
- Hayat, S. h., Hasan, S. A., Fariduddin, O. and Ahmad, A. (2008) Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. Journal of Plant Interactions 3:4.
- Howladar, S. M. (2014) A novel *Moringa oleifera* leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety 100: 69-75.
- Iqbal, N., Nazar, R., Iqbal, M., Khan R., Masood, A. and Khan, N. A. (2011) Role of gibberellins in regulation of source-sink relations under optimal and limiting environmental conditions. Journal of current science 100: 7-10.
- Jia-kuan, X., Lian-xin, Y., Zi-qiang, W., Gui-chun, D., Jian-ye, H. and Yu-long, W. (2005) Effects of soil Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid detemation of free proline for water stress studies. Journal of Plant Soil 39: 205-207.
- Carbonell, A. A., Aarabi, M. A., DeLaune, R. D., Gambrell, R. P. and Patrick, J. W. H. (1998) Arsenic in wetland vegetation: Availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. Science of the Total Environment 217:189-199.
- Choudhary, P. S., Kanwar, M., Bhardwaj, R., Gupta, B. D. and Gupta, R. K. (2011) Epibrassinolide ameliorates Cr (VI) stress via influencing the levels of indole-3-acetic acid, abscisic acid, polyamines and antioxidant system of radish seedlings. Journal of Chemosphere 84: 592-600.
- Chun-xi, L., Shu-li, F., Yun, S. h., Li-na, J., Xu-yang, L. and Xiao-li, H. (2007) Effects of arsenic on seed germination and physiological activities of wheat seedlings. Journal of Environmental Sciences 19: 725-732.
- Claeys, H., De Bodt, S. and Inze, D. (2013) Gibberellins and DELLAS: central nodes in growth regulatory networks. Journal of Trends in Plant Science 1: 9.
- Cvikov, M., Gemperlová, L., Martincová, O. and Vanková, R. (2013) Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. Journal of Plant Physiology and Biochemistry 73: 7-15.
- Davea, R., Tripathia, R. D., Dwivedia S., Tripathia, P., Dixita, G., Sharmab, Y. K., Trivedia, P. K., Corpasd, F. J., Barrosoe, J. B. and Chakrabartya, D. (2013) Arsenate and arsenite exposure modulate antioxidants and amino acids in contrasting arsenic accumulating rice (*Oryza sativa* L.) genotypes Richa. Journal of Hazardous Materials 262:1123-1131.
- Dia, L. P., Xiong, Z. T. and Huang, Y. (2006) Cadmium induced changes in pigments total phenolics, and phenyl alanine ammonia-lyase activity in fronds of

- plant. Journal of Persian Gulf Crop Protection 2: 14-18.
- Shaddad, M. A. K., Hamdia Abd El-Samad, M. and Mohammed, H. T. (2013) Interactive effects of drought stress and phytohormones or polyamines on growth and yield of two Maize (*Zea maize* L.) genotypes. American Journal of Plant Sciences 2: 790-807.
- Shah, S. H. (2007) Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. Journal of Plant physiology 33: 97-106.
- Shirani Bidabadi, S., Mahmood, M., Baninasab, B. and Ghobadi, C. (2012) Influence of salicylic acid on morphological and physiological responses of banana(*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tips to *in vitro* water stress induced by polyethylene glycol. Journal of plant Omics 5: 33-39.
- Siddiqui, H. M., Al-Whaibi, H. M. and Basalah, O. M. (2010) Interactive effect of calcium and gibberellin on nickel tolerance in relation to antioxidant systems in *Triticum aestivum* L. Protoplasma 248: 503-511.
- Sommella, A., Deacon, C., Norton, G., Pigna, M., Violante, A. and Meharg, A. A. (2013) Total arsenic, inorganic arsenic, and other elements concentrations in Italian rice grain varies with origin and type. Journal of Environmental Pollution 181:38-43.
- Soroushi, H., Saki Nejad, T., Shoukofar A. and Soltani, H. (2011) The interaction of drought stress and gibberellic acid on Corn (*Zea Mays* L.). World Academy of Science, Engineering and Technology 60: 142-143.
- Sperdouli, I. and Moustakas, M. (2012) Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. Journal of Plant Physiology 169: 577-585.
- Stewart, G. R. and Lee, J. A. (1974) The role of proline accumulation in halophytes. *Planta* 120: 279-289.
- Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: a multifunctional amino acid. Journal of Trends in Plant Science 15: 89-97.
- Thomas, S. Y. Choong, Chuah, T. G., Robiah, Y., GregoryKoay, F. L. and Azni, I. (2007) Arsenic toxicity, health hazard and removal techniques from waterian overview. Journal of Desalination 217: 139-166.
- Zheng, M. Z., Cai, C., Hu, Y., Sun, G. X., Williams, P. N., Cui, H. G., Li, G., Zhao, F. J. and Zhu, Y.G. (2011) Spatial distribution of arsenic and temporal variation of its concentration in rice. Journal of New Phytologist 189: 200-209.
- copper concentration on growth, development and yield formation of Rice (*Oryza sativa* L.). Rice Science 12: 125-132.
- Kareem, I. and Ismail, M. R. (2013) Osmotic and hormonal priming for rice growth and yield increase. Journal of Chemical and Environmental Sciences 1: 31-39.
- Levent Tuna, A., Kayab, C., Dikilitas, M. and Higgs, D. (2008) The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Journal of Environmental and Experimental Botany 62:1-9.
- Liang, Z., Ma, Y., Xu, T., Cui, B., Liu, Y., Guo, Z. and Yang, D. (2013) Effects of abscisic acid, gibberellin, ethylene and their interactions on production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* Bunge Hairy Roots. Plosone 8: 72-80.
- Mansouri, H. (2012) Salicylic acid and sodium nitroprusside improve postharvest life of chrysanthemums scientia. Journal of Horticulturae 145: 29-33.
- Merlin, T. P. A., Lima, G. P. P., Leonel, S. and Vianello, F. (2012) Peroxidase activity and total phenol content in citrus cuttings treated with different copper sources. South African Journal of Botany 83: 159-164.
- MD-Aktar, H., Kim, S., Heonkim, K., Lee, S. J. and Lee, H. (2009) Flavonoid compounds are enriched in Lemno Balm (*Melissa officinalis*) leaves by a high level of sucrose and confer increased antioxidant activity. Journal of Hortscience 44: 1907-1913.
- Mishra, S. and Shanker Dubey, R. (2006) Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: Role of proline as enzyme protectant. Journal of Plant Physiology 163: 927-936.
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. and Giannakoula, A. (2012) Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars Plant. Journal of Physiology and Biochemistry 60:1-11.
- Romero, I., Sanchez-Ballesta, M. T., Maldonado, R., Escribano, M. I. and Merodio, C. (2008) Anthocyanin, antioxidant activity and stress-induced gene expression in high CO<sub>2</sub>-treated table grapes stored at low temperature. Journal of Plant Physiology 165: 522-530.
- Sabetfar, S., Ashouri, M., Amiri, E. and Babazadeh, S. h. (2013) Effect of drought stress at different growth stages on yield and yield component of rice