



دانشگاه گیلان، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هشتم، شماره اول، ۱۴۰۰

۱۳۹-۱۳۷

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2021.17481.2614

اثر آرسنیک و کود زیستی فسفات بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی توده بومی نعنا سبز (*Mentha spicata* L.)

جمال حکمتی^۱، * یوسف حمید اوغلی^۲، بهروز اسماعیل پور^۳ و محمود قاسم نژاد^۴

^۱ دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران،

^۲ دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران،

^۳ دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده محقق اردبیلی، اردبیل، ایران،

^۴ استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: نعنا سبز به عنوان یک سبزی و گیاه دارویی به صورت مستقیم و غیر مستقیم در سبذ غذایی افراد جامعه قرار دارد. کشت این گیاه در زمین‌های آلوده به فلزات سنگین و یا در مزارع سبزی با آب‌های نامتعارف، فاضلاب‌ها و پساب کارخانه‌ها و واحدهای صنعتی، نه تنها موجب افزایش تجمع عناصر سنگین و به‌ویژه آرسنیک در گیاه می‌شود بلکه روی خصوصیات رشدی گیاهان و سلامتی افراد مصرف‌کننده تأثیر دارد. بر این اساس پژوهش حاضر برای ارزیابی تأثیر کود زیستی فسفات در کاهش سمیت فلز سنگین آرسنیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی در گیاه نعنا سبز انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، تأثیر کود زیستی فسفات در افزایش تحمل به تنش آرسنیک در نعنا سبز، به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان ارزیابی شد. فاکتورها شامل سطوح مختلف آرسنیک (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و کود زیستی فسفات (صفر و نیم میلی‌گرم از کود زیستی فسفات) بود. داده‌برداری از گیاهان حدود دو ماه بعد از کاشت صورت گرفت و خصوصیات ریخت‌شناسی گیاه (تعداد برگ، تعداد ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ساقه و سطح برگ اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های زیست-شیمیایی از جمله محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ، کربوهیدرات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پرولین اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک از صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، مقدار وزن خشک ریشه، وزن تر گیاه، تعداد برگ، میزان کاروتنوئید به‌ترتیب به ۲/۶۵ (گرم)، ۲/۸ (گرم)، ۴/۸۸ (عدد)، ۲/۰۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) واحد کاهش یافت. کاربرد کود زیستی فسفات نیز باعث افزایش محتوای رطوبت نسبی، وزن تر گیاه، میزان کاروتنوئید برگ شد. مقایسه میانگین اثر متقابل کود زیستی فسفات × آرسنیک نشان داد که کم‌ترین ارتفاع گیاه، وزن خشک گیاه و سطح برگ مربوط به سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آرسنیک و بدون کاربرد کود زیستی به‌ترتیب ۱۱/۲۸ (سانتی‌متر)، ۸/۲۸ (گرم)، ۱۲/۰۵۲ (سانتی‌متر مربع) بود.

* مسئول مکاتبه: hamidoghli@guilan.ac.ir

نتیجه‌گیری: کاربرد کود زیستی فسفات در مقایسه با شاهد، در سطوح مختلف آرسنیک، میزان پرولین، پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز، کربوهیدرات، کلروفیل کل، کلروفیل a و b را افزایش و مقدار آرسنیک ریشه و شاخه را کاهش داد. نتایج نشان داد که کود زیستی فسفات توانسته است تا حدودی باعث بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاهان نعنا سبز نسبت به تنش آرسنیک گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، فلزات سنگین، کلروفیل

مقدمه

امروزه یکی از مسائل زیست‌محیطی، آلوده شدن منابع آب، خاک و گیاهان با فلزات سنگینی نظیر آرسنیک می‌باشد (۵). فلزات سنگین به فلزها و شبه‌فلزهایی با چگالی بالای ۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب و عدد اتمی بالای ۲۰ گفته می‌شود (۱۴). آرسنیک به دلیل ماندگاری بالایی که در خاک دارد یکی از خطرناک‌ترین نوع فلزات سنگین می‌باشد. این شبه فلز از عناصر غیر ضروری و غیر محلول در آب می‌باشد (۳).

آرسنیک جذب فسفر توسط گیاه را کاهش می‌دهد و با اثر متقابل با گروه‌های سولفیدریل، باعث اختلال در ایجاد انرژی سلول می‌گردد (۳). هم‌چنین با کاهش برخی از آنزیم‌های حیاتی، مانند گلوتامین سینتتاز، گلوتامات سینتتاز و نیترات ردوکتاز، باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۱ یا رادیکال‌های آزاد (سوپراکسید، هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد) می‌شود. افزایش بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد سبب تخریب اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدهای غشای سلولی و در نتیجه تغییر فعالیت غشای سلولی و توقف رشد گیاه می‌شوند (۲۳).

حد مجاز آرسنیک در خاک ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، حد مجاز آن در گیاه ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و حد سمی آن در گیاه ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم است (۲۹). فعالیت‌های انسانی و

صنعتی، استفاده از کود شیمیایی و سموم دفع آفات منجر به افزایش روز افزون آرسنیک در خاک و انباشت آن‌ها در گیاهان شده و در نتیجه رشد آن‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. علاوه بر این آرسنیک به صورت غیرمستقیم سلامت انسان را نیز تهدید می‌کند (۲۲). فلزات سنگین سمی به DNA آسیب می‌رسانند و به احتمال زیاد اثرات سرطان‌زایی آن‌ها در حیوانات و انسان‌ها از قابلیت جهش‌زایی این فلزات سرچشمه می‌گیرند. آرسنیک باعث ایجاد سرطان پوست، مثانه، ریه و کبد در انسان می‌گردد (۲۳).

تشکری‌زاده و همکاران (۲۰۱۶) نکروزه شدن برگ‌های مسن و کلروزه شدن برگ‌های جوان در ریحان را از جمله علائم سمیت آرسنیک گزارش کرده‌اند (۲۱).

در سال‌های اخیر توجه به روش‌های زیستی برای مقابله با تنش فلزات سنگین شامل استفاده از موجودات ذره‌بینی (باکتری‌های محرک رشد مانند حل‌کننده‌های فسفات و پتاسیم و باکتری‌های آزادزی تثبیت‌کننده نیتروژن، ریزوبیوم‌ها، قارچ مایکوریز) به دلیل تأثیر در رشد و عملکرد گیاهان، اهمیت زیادی پیدا کرده است (۹). هم‌چنین کودهای زیستی نیز با سازوکارهایی مانند: ۱- هدایت یون‌های فلزی به خارج از سلول، ۲- ذخیره یون‌های فلزی در داخل سلول، ۳- تبدیل فلزات سمی به فرم‌های با سمیت کمتر (کلاته کردن)، ۴- جذب یا واجذب فلزات باعث کاهش اثرات سمیت فلزات سنگین می‌شوند

1- Reactive Oxygen Species

تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل کود زیستی فسفات در دو سطح (صفر و نیم میلی گرم) از شرکت زیست‌فناور سبز و خاک (لومی-شنی) آلوده به آرسنیک با سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خاک تهیه شده از شرکت معدن طلای زره شوران واقع در استان آذربایجان غربی، شهرستان تکاب) بود. در این آزمایش، ساقه‌های زیرزمینی توده بومی نعنا سبز تهیه شده از شهرستان بوکان در گلدان‌های حاوی خاک (لوم-شنی) آلوده به آرسنیک (آلودگی طبیعی) کشت شدند. کود زیستی فسفات همراه آب آبیاری به پای گلدان‌ها داده شد.

برای انجام این پژوهش نمونه خاک‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه جهت همگن‌سازی ذرات از الک ۲ میلی‌متر عبور داده شده و برخی از ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی نظیر بافت خاک با روش هیدرومتری، میزان ماده آلی با روش اکسیداسیون مرطوب، واکنش خاک (pH) در گل اشباع و قابلیت رسانایی الکتریکی (EC) در عصاره گل اشباع، نیتروژن خاک با روش کج‌دال، فسفر به روش اولسن (مقدار ۲/۵ گرم خاک هوا خشک عبور داده شده از الک ۲ میلی‌متری را وزن کرده و در ارلن مایر ۲۵۰ ریخته شد؛ سپس مقدار ۵۰ میلی‌لیتر محلول بی‌کربنات سدیم ۱/۵ نرمال و یک قاشق زغال فعال را به آن اضافه و نیم ساعت شیک شده؛ سپس محتویات آن صاف شده و محتوای فسفر موجود در عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید، پتاسیم با استفاده از دستگاه فلم‌فتومتر و همچنین میزان کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شدند و با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش‌ها، خاک مطلوب انتخاب شد. همچنین پس از اندازه‌گیری آرسنیک خاکی که از معدن طلای زره شوران شهرستان تکاب، واقع در

(۲۴). نعمتی و گلچین (۲۰۱۵) گزارش دادند، که کاربرد کودهای زیستی، رشد و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی را در شرایط تنش کادمیم افزایش می‌دهد (۲۶).

کود زیستی فسفات بارور ۲، حاوی دو نوع باکتری حل‌کننده فسفات از گونه‌های *Bacillus lentus* و *Pseudomonas putida* است که با تولید اسیدهای آلی و اسید فسفاتاز، فسفر نامحلول خاک را به فرم محلول تبدیل می‌کند. این کود باعث افزایش دوام برگ (استفاده بهینه از انرژی خورشیدی و فتوسنتز) و توسعه سیستم ریشه‌ای (بهبود جذب آب) در شرایط تنش می‌شود (۱۹).

نعنا (*Mentha spicata* L.) متعلق به تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) گیاهی علفی، چند ساله، معطر می‌باشد که به‌علت وجود آنتوسیانین به رنگ بنفش دیده می‌شود و مثل سایر گیاهان خانواده نعنائیان حاوی اسانس می‌باشد. این گیاه به‌دلیل استفاده دارویی و همچنین سبزی خوراکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از مواد مؤثره نعنا، در صنایع داروسازی، صنایع غذایی، بهداشتی- آرایشی، شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و صنایع ادویه‌ای استفاده می‌شود (۲۷). در مزارع سبزی با آب‌های نامتعارف، فاضلاب‌ها و پساب کارخانه‌ها و واحدهای صنعتی، خطر تجمع عناصر سنگین در پژوهش حاضر تأثیر کود زیستی فسفات در کاهش سمیت فلز سنگین آرسنیک در خصوصیات رشدی و زیست-شیمیایی گیاه نعنا سبز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کود زیستی فسفات بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی گیاه نعنا سبز تحت تنش آرسنیک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶

۱۵، طول ۴۵ و عرض ۳۵ سانتی‌متر) حاوی خاک و ماسه بادی (به نسبت دو به یک) با ۳۶ عدد گیاه نعنا سبز در دمای گلخانه 25 ± 6 با رطوبت نسبی ۶۵ درصد، مورد تیمار قرار گرفتند.

استان آذربایجان غربی تهیه شده بود؛ غلظت آرسنیک به‌وسیله دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد و با اضافه کردن آرسنیک به غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رسید. در این پژوهش گلدان‌های (ارتفاع

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک.

Table 1. The physical and chemical properties of soil.

هدایت الکتریکی EC (dsm^{-1})	اسیدیته pH	کربنات کلسیم (%)	ماده آلی Organic matter (%)	نیتروژن N (%)	پتاسیم K (ppm)	فسفر P (ppm)	درصد رس Clay (%)	درصد سیلت Silt (%)	درصد شن (%)	بافت خاک Soil texture
1.38	7.3	19.1	0.45	0.12	263	3.8	14	36	50	لومی Loam

از توزین با استفاده از رابطه ۱ تعیین شد (dW) (۲۸).

$$RWC = \left[\frac{fW - dW}{tW - dW} \right] \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری میزان پرولین حدود ۰/۱ گرم از بافت برگ‌های جوان در دو میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک حل شد و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس در فالتون دیگری یک میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص و یک میلی‌لیتر عصاره حاصل ریخته شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری قرار گرفتند و پس اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر تولوئن به هر کدام از لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از تشکیل دو فاز جداگانه فاز رنگی بالایی جدا شده و مقدار جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر قرائت شد (۴)، جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۱ گرم بافت برگ‌ها در یک میلی‌لیتر الکل ۹۵ درصد حل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. پس از جداسازی محلول رویی دوبار و در هر بار یک

اندازه‌گیری صفات: این آزمایش در گلخانه و آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. داده‌برداری از گیاهان حدود دو ماه بعد از کاشت صورت گرفت و خصوصیات ریخت‌شناسی گیاه (تعداد برگ، تعداد ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ساقه و سطح برگ با دستگاه سطح‌سنج مدل ADC اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های زیست‌شیمیایی از جمله محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ با استفاده از روش آرنون اندازه‌گیری گردید. برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت‌تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ حل شد، محلول در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید و پس از جمع‌آوری محلول رویی، جذب نوری در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ نانومتر قرائت گردید (۲).

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC) حدود نیم گرم از جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته‌تر (fW) به مدت ۲۴ ساعت در آب دیونیزه در هوای آزاد قرار داده شد و توزین گردید (tW) سپس؛ به مدت ۲۴ ساعت در آن در دمای ۷۰ درجه قرار داده شد و پس

$\text{pH}=6.8$ ، ۱۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۰/۳ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم براساس میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۶). اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول بر اساس روش برادفورد انجام شد (۶).

برای اندازه‌گیری غلظت آرسنیک در گیاه مقدار یک گرم پودر ماده خشک گیاه را در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و سپس ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید ۱:۱ به آن اضافه شد و به مدت پانزده دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن مجدداً ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۱:۱ اضافه شد و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس دو میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس پنج میلی‌لیتر کلریدریک اسید غلیظ به آن اضافه شد و بدون جوشیدن حرارت داده شد. پس از سرد شدن عصاره را با کاغذ صافی واتمن صاف نموده و با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۲۹). داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 تجزیه واریانس گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد برگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تنش فلز سنگین آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، تعداد برگ را تحت‌تأثیر قرار داد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر آرسنیک بر تعداد برگ نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک میزان این شاخص کاهش پیدا کرد (جدول ۳).

میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد به آن اضافه شد (همه موارد در حمام یخ و نور کم انجام شد). عصاره ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از جداسازی محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره برداشته شد و پس از اضافه کردن سه میلی‌لیتر آنترون به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد (۱۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز به روش‌های زیر صورت گرفت. برای استخراج عصاره پروتئینی برگ ۰/۰۵ از بافت برگی توزین گردید و با یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار $\text{pH}=6.8$ در یک هاون چینی و در حمام یخ هموژنیزه شد. هموژنات همراه با یک میلی‌لیتر از محلول حاصل از شستشوی هاون، داخل لوله سانتریفوژ ریخته شد و مدت ۲۰ دقیقه در ۱۷۶۰۰ گرم در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. سوپرناتانت به عنوان عصاره پروتئینی برگ به‌منظور اندازه‌گیری مقدار پروتئین‌های محلول و بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول واکنش در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر برای پراکسیداز شامل ۲/۷۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار $\text{pH}=7$ ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۰/۶ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن، ۱/۲ مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم براساس میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۱۴). برای سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، محلول واکنش در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر برای پلی‌فنل‌اکسیداز شامل ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات کود زبستی فسفات و تنش آرسنیک بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نناع سبز.

Table 2. analysis of variance of phosphate Bio fertilizer and arsenic stress on physiological and biochemical parameters of greenmint.

محتوای رطوبت نسبی Relative Water content	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Number of leaves	ارتفاع بوته Plant height	درجه آزادی		منابع تغییرات S.O.V
							df	df	
65.05 ^{ns}	6503.1 ^{**}	251.35 ^{**}	8468.2 ^{**}	71644.05 ^{ns}	11269.14 ^{**}	502.14 ^{**}	2	2	آرسنیک Arsenic
54.012 [*]	159.34 ^{ns}	366.22 ^{**}	2956.1 ^{**}	27580.3 ^{ns}	2874.4 ^{ns}	132.15 ^{**}	1	1	کود زبستی فسفات Phosphate Fertilizer
42.04 ^{ns}	94.14 ^{ns}	544.55 ^{**}	712.4 ^{ns}	33013.7 ^{**}	7485.11 ^{ns}	84.12 ^{**}	2	2	آرسنیک × کود Arsenic × Phosphate Fertilizer
3.01	96.85	10.99	220.47	70125.1	4032.3	11.04	30	30	خطا Error
8.97	20.11	16.88	19.05	18.15	21.12	11.17			ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

ادامه جدول ۲ -
Continue Table 2.

آرسنیک شاخه Arsenic concentration of plant	آرسنیک ریشه Arsenic concentration of root	پلی فنل اکسیداز Poly phenol oxidase	کلروفیل کل		کلروفیل Chlorophyll a	کلروفیل Chlorophyll b	کلروفیل Chlorophyll total	کاروتنوئید Carotenoids	قند محلول Soluble sugar	پروлін Proline	پراکسیداز Peroxidase Activity	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
			میانگین مربعات	df									
46.9 ^{**}	0.28 ^{**}	1.5 ^{**}	10.29 [*]	4.1 ^{ns}	7.55 [*]	5.2 ^{**}	0.007 ^{**}	9110.4 ^{**}	22.45 ^{**}	2	2	آرسنیک Arsenic	
1.64 ^{**}	0.06 [*]	0.03 ^{ns}	45.48 ^{**}	17.71 ^{ns}	18.4 ^{**}	5.2 ^{**}	0.012 ^{**}	8099.46 ^{ns}	1.4 ^{ns}	1	1	کود زبستی فسفات Phosphate Fertilizer	
1.21 ^{**}	0.04 [*]	2.5 ^{**}	9.14 [*]	3.14 [*]	6.16 [*]	1.5 ⁿ	0.013 ^{**}	9120.47 ^{**}	0.5 [*]	2	2	آرسنیک × کود Arsenic × Phosphate Fertilizer	
0.14	0.22	0.3	2.62	2.34	2.78	3.42	0.006	6145.3	0.6	30	30	خطا Error	
11.4	22.41	22.13	28.35	13.55	20.49	12.21	11.21	7.12	30.15				ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

^{ns}, *, ** and ** not significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively. /، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

فسفات را روی عملکرد ماش سبز مورد بررسی قرار داده و بیان کردند که تلقیح این باکتری‌ها باعث افزایش تعداد غلاف در بوته، وزن صد دانه، عملکرد دانه و عملکرد زیست توده شد (۱۵).

هم‌چنین مقایسه میانگین اثر آرسنیک بر وزن خشک ریشه نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک میزان این شاخص کاهش پیدا کرد (جدول ۳). که می‌تواند به دلیل سمیت یونی ناشی از آرسنیک در داخل گیاه و هم‌چنین کاهش کارایی فتوسنتز به دلیل وجود گونه‌های فعال اکسیژن و از طرفی متحمل شدن گیاه برای صرف انرژی بیشتر جهت حذف رادیکال‌های آزاد باشد. در موافقت با این پژوهش، کریمی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که آرسنیک با مختل کردن سوخت و ساز نیتروژن سبب کاهش تولید پروتئین‌ها شده و رشد را متوقف می‌کند (۱۷). اما باکتری‌های حل‌کننده فسفات تا حدودی این اثرات منفی ناشی از آرسنیک را کاهش داده و باعث رشد و نمو و در نتیجه بهبود عملکرد ماش سبز شدند (۱۵).

محتوای رطوبت نسبی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کود زیستی فسفات در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، محتوای رطوبت نسبی را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر کودزیستی فسفات بر محتوای رطوبت نسبی نشان داد که با افزایش کود زیستی فسفات میزان این شاخص افزایش پیدا کرد (جدول ۴). کود فسفات باعث افزایش کارایی نگهداری آب می‌شود به عبارتی با کاهش مقدار تبخیر و تعرق محتوای رطوبت برگ را بالا می‌برند که با نتایج پژوهش‌های یو و همکاران (۳۱) مطابقت دارد.

صفات رشد رویشی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش فلز سنگین آرسنیک و کود زیستی فسفات در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک شاخساره، وزن خشک ریشه، سطح برگ و تعداد را تحت‌تأثیر قرار دادند هم‌چنین اثر متقابل آرسنیک و کود زیستی فسفات ارتفاع بوته و وزن خشک شاخساره و ریشه و هم‌چنین سطح برگ اثر معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که آرسنیک باعث کاهش ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک شاخساره نعنا سبز شد، اما در حضور کود زیستی فسفات اثر تنش ناشی از آرسنیک کاهش یافت به‌طوری‌که باعث افزایش ۲۷، ۳۵، ۲۰ و ۲۰ درصدی ارتفاع بوته، وزن تر، وزن خشک شاخساره و سطح برگ به ترتیب شد (جدول‌های ۳ و ۵).

در موافقت با این پژوهش، یو و همکاران (۳۱) نیز نشان داد که کاربرد سنگ فسفات موجب افزایش ارتفاع بوته، وزن خشک ساقه و ریشه، جذب نیتروژن و فسفات توسط نهال‌های گردو و حداکثر دسترسی به فسفر و نیتروژن خاک گردید. این نتیجه می‌تواند به دلیل تأثیر فسفر بر توسعه سیستم ریشه‌ای و در نتیجه افزایش میزان جذب آب و عناصر غذایی ضروری به ویژه نیتروژن باشد. هم‌چنین کریمی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که آرسنیک با مختل کردن سوخت و ساز نیتروژن و با مهار فعالیت آنزیم‌هایی مانند گلوتامین سنتتاز، گلوتامات سنتتاز، نترات ردوکتاز و فرآیند احیای نترات سبب کاهش تولید پروتئین‌ها شده و رشد را متوقف می‌کند (۱۷). جاها و همکاران (۲۰۱۱) نیز باکتری‌های حل‌کننده

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش آرسنیک بر شاخص‌های ریخت‌شناسی و زیست-شیمیایی گیاه نعنا سبز.

Table 3. Mean comparison of effect arsenic stress on morphological and biochemical characteristics of greenmint.

کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Carotenoids (mg/g)	تعداد برگ Number of leaves	وزن تر شاخساره (گرم) Shoot fresh weight (gr)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (gr)	وزن تر ریشه (گرم) Root dry weight	آرسنیک Arsenic
0.471 ^a	712.48 ^a	100.15 ^a	80.06 ^a	403 ^a	0
0.333 ^b	521.45 ^b	64.22 ^b	46.7 ^b	246 ^b	50
0.229 ^c	145.74 ^c	35.12 ^c	30.12 ^c	155 ^c	100

*حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The different letters in each column show a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر کود زیستی فسفات بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی گیاه نعنا سبز.

Table 4. Mean comparison of effect of phosphate biofertilizer on physiological and biochemical properties of greenmint.

کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Carotenoids (mg/g)	وزن تر شاخساره (گرم) Shoot fresh weight (gr)	محتوای رطوبت نسبی RWC (%)	کود زیستی فسفات Phosphate Fertilizer (mg/kg)
0.248 ^b	79.17 ^b	59.12 ^b	0
0.489 ^a	109.12 ^a	75.5 ^a	0.5

*حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The different letters in each column show a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل کود زیستی فسفات و تنش آرسنیک بر ویژگی‌های رشدی گیاه نعنا سبز.

Table 5. Mean comparison of interaction of phosphate biofertilizer and arsenic stress on growth characteristics of greenmint.

ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)	وزن خشک شاخساره (گرم) Shoot dry weight (gr)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع) Leaf area (cm ²)	آرسنیک (میلی‌گرم بر لیتر) Arsenic levels in (mg L ⁻¹)	کود زیستی فسفات Phosphate BioFertilizer
40.16 ^{ab}	30.2 ^{ab}	30.245 ^{ab}	0	
31.5 ^{bc}	21.68 ^c	20.3228 ^c	50	0
11.28 ^d	8.28 ^d	12.052 ^c	100	
41.14 ^a	31.3 ^a	31.3568 ^a	0	
38.18 ^b	28.5 ^b	27.5441 ^b	50	0.5
26.25 ^c	15.8 ^d	19.5442 ^d	100	

*حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار در احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD را نشان می‌دهند.

The different letters in each column show a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

فسفات‌ها مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۶).

کلروفیل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات‌ها و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، کلروفیل کل را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۲). بیش‌ترین میزان کلروفیل کل ($14/4$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان تیمار شده با کود زیستی فسفات‌ها و در غلظت شاهد آرسنیک مشاهده شد. کم‌ترین آن نیز ($3/52$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در غلظت 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم آرسنیک و بدون استفاده از کود زیستی فسفات‌ها حاصل گردید (جدول ۶). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که آرسنیک باعث کاهش میزان کلروفیل و رشد و نمو گیاه می‌شود که این عمل می‌تواند ناشی از تخریب رنگیزه کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز و کاهش رشد و نمو باشد. که سایر پژوهشگران در این خصوص گزارش دادند که افزایش غلظت آرسنیک باعث تغییر شکل کلروپلاست، گرد شدن و کوتاه شدن محور طولی سلول، تو رفتگی غشاء، خمیدگی و تخریب غشاء شده که در نتیجه موجب کاهش محتوای کلروفیل برگ می‌گردد (20).

مقدار کربوهیدرات‌ها: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات‌ها و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، کربوهیدرات را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بیانگر آن بود که بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌ها ($0/42$ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در غلظت 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم آرسنیک و با کاربرد کود زیستی فسفات‌ها حاصل شد کم‌ترین میزان کربوهیدرات‌ها ($0/11$ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در غلظت 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم آرسنیک و بدون

رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات‌ها و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، کلروفیل a را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آرسنیک و کاربرد کود زیستی فسفات‌ها بر این شاخص نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های a در تیمار 100 گرم کود زیستی (فسفات‌ها) ($10/12$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. کم‌ترین آن ($2/12$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیز در تیمار شاهد و غلظت 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم آرسنیک مشاهده گردید (جدول ۶). مطالعات انجام شده روی گندم و لوبیا نشان می‌دهد که کلروز ایجاد شده در این گیاهان، نتیجه القای تنش اکسیداتیو توسط آرسنیک بوده که منجر به کاهش محتوی کلروفیل برگ‌ها، تغییر شکل کلروپلاست و تخریب ساختار کاروتنوئیدها می‌گردد (20). تنش ناشی از آرسنیک باعث کاهش مقدار کلروفیل می‌شود، که این می‌تواند به‌دلیل کاهش میزان کلروفیل b و در نتیجه کاهش کارایی به دام انداختن انرژی توسط فتوسیستم II، آسیب به غشاء تیلاکوئید و کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو، و زنجیره انتقال الکترون باشد که می‌تواند باعث کاهش فتوسنتز و رشد شود (21).

کلروفیل b: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات‌ها و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری، کلروفیل b را تحت‌تأثیر قرار دادند (جدول ۲). بیش‌ترین میزان کلروفیل b ($4/18$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان پرورش یافته در شرایط بدون تنش آرسنیک (شاهد) و نیم گرم در 100 گرم کود زیستی فسفات‌ها حاصل گردید. کم‌ترین آن ($1/27$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در سطح سوم تنش (100 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و بدون استفاده از کود زیستی

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز که بالاترین میزان این آنزیم (۰/۲۱ میکرومول بردقیقه بر میلی گرم پروتئین) در تیمار نیم گرم کود زیستی فسفات و غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک به دست آمد و کمترین مقدار آن (۰/۰۱ میکرومول بردقیقه بر میلی گرم پروتئین) نیز در غلظت ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک و بدون کاربرد کود زیستی فسفات به دست آمد (جدول ۶). گیاهان در پاسخ به تنش آرسنیک فعالیت آنزیم‌ها آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز و کاتالاز را افزایش می‌دهند و این آنزیم‌ها باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند (۱۰). در گیاه گوجه‌فرنگی افزایش آرسنیک سبب بالاتر رفتن فعالیت آنزیم پراکسیداز گردیده است (۱۸) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

غلظت آرسنیک در شاخساره و ریشه گیاه: نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین مقدار آرسنیک در بخش هوایی ۰/۵۶ میلی گرم بر کیلوگرم در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک و بدون استفاده از کود زیستی فسفات مشاهده گردید که با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک در تیمار نیم گرم کود زیستی فسفات تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۶). نتایجی که از تأثیرگذاری حل‌کننده‌های فسفات بر محتوای فسفر بخش هوایی در گیاه مریم‌گلی به دست آمد، بیانگر افزایش میزان جذب فسفر توسط ریشه گیاهان تیمار شده با کودهای زیستی فسفات به علت افزایش قابلیت دسترسی به فسفر و متعاقب آن بهبود ظرفیت ریشه برای جذب فسفر و انتقال آن به بخش هوایی گیاه می‌باشد (۱۱).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل آرسنیک و کود زیستی فسفات بر میزان تجمع آرسنیک در ریشه نشان داد که بیشترین میزان آرسنیک در ریشه (۸/۰۹ میلی گرم بر کیلوگرم) در تیمار شاهد کود و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک به دست آمد و کمترین آن (۰/۲۸ میلی گرم بر کیلوگرم) در تیمار شاهد کود و شاهد آرسنیک به دست آمد (جدول ۶).

کاربرد کود زیستی فسفات به دست آمد (جدول ۶). در گیاه گوجه‌فرنگی افزایش آرسنیک سبب بالاتر رفتن مقدار کربوهیدرات گردیده است (۱۸) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

میزان پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به طور معنی‌داری، پرولین را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک و پنج درصد به طور معنی‌داری، پرولین را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). بیشترین میزان پرولین (۰/۵۲۱ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک و استفاده از کود زیستی فسفات به دست آمد و کمترین آن (۰/۲۸۵ میکروگرم بر گرم وزن تازه) در تیمار نیم گرم کود زیستی فسفات و بدون آلودگی با آرسنیک به دست آمد (جدول ۶). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند مستقیماً به پروتئین‌ها، آمینواسیدها و اسیدهای نوکلئیک آسیب بزنند و باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی شوند (۸).

فعالیت‌های آنزیمی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش فلز سنگین آرسنیک، کود زیستی فسفات و اثر متقابل کود \times آرسنیک در سطح احتمال یک درصد به طور معنی‌داری، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آرسنیک و کود زیستی فسفات بر این شاخص نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۹۲/۶ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک و بدون کاربرد کود زیستی فسفات، کمترین آن (۴۲/۱ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در تیمار شاهد و کود ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم آرسنیک به دست آمد. در رابطه با

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل کود زیستی فسفات و تنش آرسنیک بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نناع سبز (*Mentha spicata* L.).

Table 6. Mean Comparison of interaction phosphate Biofertilizer and arsenic stress on physiological and biochemical parameters of greenmint (*Mentha spicata* L.).

آرسنیک ریشه Arsenic concentration in the root (mg/kg)	آرسنیک شاخه Arsenic concentration of the plant (mg/kg)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g)	کلروفیل کل Chlorophyll total (mg.g)	قند محلول Solublesugar (mg.g)	پراکسیداز Peroxidase (μ mol d ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	پلی فنل اکسیداز Phenol oxidase enzyme (μ mol d ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	پروترین Proline (mg.g)	آرسنیک Arsenic levels in (mg L ⁻¹)	کود زیستی فسفات Phosphate Fertilizer
0.28 ^f	0.33 ^c	8.42 ^{bc}	2.68 ^d	9.1 ^c	0.109 ^e	54.10 ^d	0.07 ^{Cd}	0.348 ^{Cd}	0	
3.29 ^d	0.45 ^b	5.41 ^c	2.18 ^e	6.49 ^d	0.011 ^f	65.01 ^e	0.01 ^e	0.319 ^d	50	0
8.09 ^a	0.56 ^a	2.12 ^d	1.68 ^f	3.52 ^e	0.21 ^d	92.6 ^a	0.13 ^e	0.396 ^c	100	
1.44 ^e	0.2 ^e	10.12 ^a	4.18 ^a	14.4 ^a	0.27 ^c	42.1 ^f	0.08 ^d	0.285 ^e	0	
4.45 ^c	0.25 ^d	8.63 ^b	3.64 ^b	13.12 ^b	0.32 ^b	78.19 ^c	0.16 ^b	0.413 ^b	50	0.5
6.58 ^b	0.54 ^a	5.44 ^c	3.12 ^c	12.15 ^{bc}	0.42 ^a	81.14 ^b	0.21 ^a	0.521 ^a	100	

The different letters in each column show a significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.
حروف مشابه اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD را نشان نمی‌دهد.

از طریق افزایش جذب فسفر و سایر عناصر نسبت به آرسنیک و در نتیجه کاهش اثرات سمی آرسنیک بهبود سرعت رشد و نمو شود و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کود زیستی فسفات‌ها برای گیاه نعنا سبز می‌تواند مفید باشد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که عنصر سمی آرسنیک تا حدود زیادی توسط گیاه نعنا سبز جذب شده و نشان‌دهنده گیاه پالایی گیاهان این خانواده باشد که خود می‌تواند اثرات سمی بر حیوان و انسان بگذارد. اما کاربرد کود فسفات‌ها، به‌خصوص کود زیستی فسفات‌ها می‌تواند کاهش جذب

منابع

1. Aghighi Shahverdi, M., Amini Dehaghi, M., Ataei Somagh, H. and Behnam Mamivanad, B. 2019. The effect of different nutritional systems with nitrogen and phosphorous fertilizers on quantitative and qualitative traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). J. Plant Prod. 4: 1-14. (In Persian)
2. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. J. Plant physiol. 24: 1-15.
3. Asadi Karam, E., Keramat, B. and Mozaffari, H. 2017. Effect of interaction of triacontanol and arsenic on growth and some biochemical and physiological in soybean (*Glycine max*). J. Plant Res. 3: 1-11. (In Persian)
4. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Int. J. Plant-Soil Relat. 39: 205-207.
5. Bijeni, M. and Asgharipour, M.R. 2016. Effect of mycorrhiza inoculation and phosphorus fertilizer on arsenic resistance of fenugreek. J. Greenhouse Cul. Sci. Tech. 26: 137-126. (In Persian)
6. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. J. Anal. Biochem. 72: 248-254.
7. Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Meth. Enzymol. 2: 764-775.
8. Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. J. Plant Physiol. Biochem. 48: 909-930.
9. Glick, B.R. 2010. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. Biotechnol. Adv. J. Soil Man. Sus Pro. 28: 367-374.
10. Hasanuzzaman, M. and Fujita, M. 2013. Exogenous sodium nitroprusside alleviates arsenic-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by enhancing antioxidant defense and glyoxalase system. J. Ecot. 22: 584-596.
11. Hashem Abadi, D., Zaredost, F., Barari Ziyabari, M., Zarchini, M., Kaviani, B., Jadid Solimandarabi, M., Torkashvand, A.M. and Zarchini, S. 2012 Influence of phosphot biofertilizer on quantity and quality features of marigold. Aust. J. Crop Sci. 6: 1101-1109.
12. Hung, K.T. and Kao, C.H. 2003. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by abscisic acid. J. Plant Physiol. 160: 871-879.
13. Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Int. J. Plant Bio. 84: 55-60.
14. Javan Siamardi, S., Rezaei Kakhka, M.R., Safaei Moghaddam, A. and Noori, R. 2014. Survey of heavy metals concentration (Fe), Ni, Cu, Zn, (Pb) in farmland soils of Sistan central part. J. Envir. Health Eng. 1: 46-53. (In Persian)
15. Jha, A., Sharma, D. and Saxena, J. 2012. Effect of single and dual phosphate-solubilizing bacterial strain inoculations

- on overall growth of mung bean plants. *J. Arch. Agron. Soil Sci.* 58: 967-981.
16. Kar, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *J. Plant Physiol.* 57: 315-319.
 17. Karimi, N., Ghaderian, S.M., Marofi, H. and Schat, H. 2010. Analysis of arsenic in soil and vegetation of a contaminated area in Zarshuran, Iran, identify two angiosperm arsenic hyperaccumulators. *Int. J. Phytoremed.* 12: 159-173.
 18. Karimi, N. and Souri, Z. 2013. Metabolic adaptations to arsenic-induced oxidative stress in *Isatis cappadocica*. *Iran. J. Plant Physiol.* 11: 785-792.
 19. Khatami, M., Rarmoudi, M. and Glavie, M. 2018. The effect of application of phosphorus biological and chemical fertilizers on flower yield, essential percentage and osmotic adjustments in chamomile medicinal plant in response to dehydration stress. *J. Crop Prod.* 4: 119-132. (In Persian)
 20. Kranner, I. and Colville, L. 2011 Metals and seeds: Biochemical and molecular implication and their significance for seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 72: 93-105.
 21. Tashakorizadeh, M. and Saeidnejad, A.H. 2016. Effect of different concentrations of chromium (III) on morphological characteristics and essential oil chemical composition of basil. *Iran. J. Water. Soil.* 27: 2-14. (In Persian)
 22. Moreno-Jiménez, E., Esteban, E. and Peñalosa, J.M. 2012. The fate of arsenic in soil-plant systems. In *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer. New York, NY, 53p.
 23. Mohammadi, S., Heidari, M., Dehdarrah, M. and Asgharipour, M.R. 2015. The effect of nitrogen and arsenic on photosynthetic pigments, enzyme activity Antioxidants and Minerals of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Crop Prod.* 4: 105-120. (In Persian)
 24. Wani, P.A., Khan, M.S. and Zaidi, A. 2008. Chromium-reducing and plant growth-promoting Mesorhizobium improves chickpea growth in chromium-amended soil. *Biotechnol. Lett.* 30: 159-163.
 25. Nemati, A. and Golchin, A. 2015. Effects of biological fertilizers on yield and concentrations of micronutrients in organs of tomato under cadmium stress. *J. Soil Manage. Sust. Prod.* 5: 45-64. (In Persian)
 26. Omidbeigi, R., Sadrai Menjili, K. and Sefidkon, F. 2006. Effect of Sowing Dates in the Productivity of Fennel (*Foeniculum vulgare*) CV. Soroksari. *Sci. J. Manage. Syst.* 21: 465-479. (In Persian)
 27. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Holaday, A.S. 1990. Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *J. Crop Sci.* 30: 105-111.
 28. Safari, M. 2014. the tendency of conventional agriculture (intensive Agric.) sustainable agriculture (sustainable Agric) solutions to improve the quality of soils in semi-arid regions of Iran. The first national conference on sustainable management of soil resources and the environment. Kerman Shahid Bahonar University. (In Persian)
 29. Soon, Y.K. and Abboud, S. 1993. Distribution of nickel, manganese and cadmium in soil and crops in the Mobarakeh steel plant region. *J. Water. Soil. Sci.* 8: 55-67. (In Persian)
 30. Yadollahi, P., Asgharipour, M.R. and Sheikhpour, S. 2014. Effect of ascorbic acid on the growth and photosynthetic pigments of basil under arsenic stress. *J. Crop Ecophysiol.* 4: 553-566. (In Persian)
 31. Yu, X., Liu, X., Zhu, T.H., Liu, G.H. and Mao, C. 2012. Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogenfixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *Europ. J. Soil Bio.* 90: 112-117.

Arc